

Tese de Doutorado

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A
PLASTICIDADE HIPOCAMPAL NO ENVELHECIMENTO**

THAIS CERESÉR VILELA



**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CÊNCIAS DA SAÚDE**

THAIS CERESÉR VILELA

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A
PLASTICIDADE HIPOCAMPAL NO ENVELHECIMENTO**

Tese de Doutorado apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade do
Extremo Sul Catarinense para
obtenção do título de Doutor em
Ciências da Saúde
Orientadora: Prof^{ra}. Dr^a. Vanessa
Moraes de Andrade
Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo
Aurino de Pinho

Criciúma

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

V699e Vivela, Thais Ceresér.

Efeitos do treinamento físico sobre a plasticidade hipocampal no envelhecimento / Thais Ceresér Vivela ; orientadora : Vanessa Moraes de Andrade ; coorientador: Ricardo Aurino de Pinho. – Criciúma, SC : Ed. do Autor, 2016.
92 p. : il. ; 21 cm.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2016.

1. Exercícios físicos para idosos. 2. Treinamento de força. 3. Exercícios aeróbicos. 4. Envelhecimento. 5. Memória espacial. I. Título.

CDD 22. ed. 613.70446

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla – CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC

Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão

Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)

Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005

PARECER


Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO apresentada pela candidata **Thais Ceresér Vilela** sob o título “EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A PLASTICIDADE HIPOCAMPAL NO ENVELHECIMENTO”, para obtenção do grau de DOUTOR EM CIÊNCIAS DA SAÚDE do Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

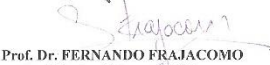
Após haver analisado o referido trabalho e arguido a candidata, os membros são de parecer pela “APROVAÇÃO” da Tese.

Criciúma, SC, 19 de dezembro de 2016.


Prof. Dr. PAULO CÉSAR LOCK SILVEIRA
Membro Relator – UNESC


Prof.ª Dra. JOSIANE BUDNI
Membro Interno – UNESC


Prof. Dr. ADERBAL AGUIAR DA SILVA JUNIOR
Membro Externo – UFSC


Prof. Dr. FERNANDO FRAJACOMO
Membro Externo – INCA


Prof.ª Dra. Vanessa Moraes de Andrade
Orientadora


Prof.ª Dra. Josiane Budni
Coordenadora Adjunta do PPGCS

Folha informativa

A tese foi elaborada seguindo o estilo Vancouver e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde na Universidade do Extremo Sul Catarinense em colaboração com o com o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do exercício.

*Á minha mãe Walkyria (in memorian), pela
vida, pelo amor e pelo apoio incondicional.
Um dia sonhou e hoje, com certeza,
compartilha desse momento comigo.
Saudades...*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família que sempre apoiou cada etapa da minha vida me dando coragem e principalmente amor. Minha mãe Walkyria (*in memoriam*), meu exemplo de mulher, de garra, simplicidade e honestidade. Que esteve comigo no início dessa caminhada me apoiando, e que com certeza está vibrando e feliz neste momento. Eternas saudades...

Pai, Ju e Maria Luiza, essa conquista também é de vocês! Foram muitos momentos de ausência, cansaço e estresse. Sem a compreensão e o carinho de vocês tudo seria mais complicado. Agradeço também ao meu amor Stéfano, pelo companheirismo, dedicação, compreensão e carinho, sem os quais não teria concluído esse projeto, te amo!

As minhas amigas lindas de laboratório Adri, Tami, Sami, Gabi mô, Mi, Flávia, Paula e Camila mô pelos cafés, jantares, pelas camas quentinhas, colos e apoio. Com certeza vocês foram responsáveis por eu não ter desistido, pois sem o carinho, recepção e cuidado de vocês não conseguiria ter finalizado este projeto. Além disso, agradeço pela amizade, conversas e risadas durante todo esse tempo.

A toda a equipe do LABIM por ter me acolhido com tanto carinho, pela amizade e ajuda.

A todos os professores do Doutorado em Ciências da Saúde, que me ensinaram e orientaram ao longo do curso.

Ao professor Alexandre Pastoris Muller e sua equipe que muito colaborou neste projeto.

Ao meu coorientador Ricardo Aurino de Pinho, por ter abraçado este projeto desde o início, pela amizade, orientação com dedicação e objetividade permitindo meu crescimento profissional e pessoal através dos conhecimentos compartilhados durante a elaboração da dissertação.

Finalmente, agradeço a minha querida amiga e orientadora Vanessa Moraes de Andrade pelo incentivo, por não me deixar desistir de tudo, pela calorosa recepção, por tudo que faz por todos nós todos os dias, pela orientação com carinho e dedicação aos seus alunos, por acreditar em mim e pela paciência durante este trabalho.

A todos vocês meu muito obrigada!!

*“A mente que se abre a uma nova
ideia jamais voltará ao seu
tamanho original”.*
Albert Einstein

RESUMO

O envelhecimento está associado à diminuição da cognição e memória e ao aumento da suscetibilidade a doenças neurodegenerativas. Entre as medidas de promoção de saúde, o exercício físico é um dos principais responsáveis pela prevenção a morbididades, pela redução no risco de mortalidade por doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade e osteoporose. Além disso, o exercício físico é neuroprotetor; no entanto, a maioria dos estudos envolvem apenas os efeitos da modalidade de treinamento aeróbio em animais jovens. Os benefícios de outros protocolos de exercícios, como treinamento de força em animais idosos, permanecem desconhecidos. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do treinamento aeróbio e de força sobre a memória espacial e a plasticidade do hipocampo em ratos velhos. Foram utilizados ratos Wistar de 24 meses de idade que foram submetidos ao treinamento aeróbio ou de força durante 50 min de 3 a 4 dias por semana durante 8 semanas. A memória espacial e a sinalização neurotrófica e glutamatérgica no hipocampo de ratos idosos foram avaliadas após treinamento aeróbio ou de força. Tanto o treinamento aeróbio quanto o treinamento de força melhoraram a cognição durante o desempenho de uma tarefa de memória espacial. Notavelmente, a melhora da memória espacial foi acompanhada por um aumento nas proteínas de plasticidade sináptica no hipocampo após o treino, com algumas diferenças nas funções intracelulares dessas proteínas entre os 2 protocolos de exercício. Além disso, a sinalização neurotrófica (CREB, BDNF e receptor P75^{NTR}) aumentou após o treinamento para ambos os protocolos de exercício, e o exercício aeróbio aumentou especificamente as proteínas glutamatérgicas (receptor NMDA e PSD-95). Observou-se também uma diminuição nos danos ao DNA após o treinamento aeróbio. Em contraste, o treinamento de força aumentou os níveis de PKC α e os fatores pró-inflamatórios TNF- α e IL-1 β . Em geral, os presentes resultados mostram que tanto o treinamento aeróbio quanto o treinamento de força melhoraram a memória espacial em ratos velhos através da indução de mecanismos moleculares distintos de neuroplasticidade. Nossos resultados estendem a ideia de que os protocolos de exercícios podem ser usados para melhorar a cognição durante o envelhecimento.

Palavras-chave: Envelhecimento; Memória; Exercício aeróbio; Exercício de força.

ABSTRACT

Aging is associated with impaired cognition and memory, and increased susceptibility to neurodegenerative disorders. Among the health promotion measures, physical exercise is one of the main responsible for preventing the morbidity by reducing the risk of mortality from cardiovascular disease, diabetes, obesity and osteoporosis. Physical exercise is neuroprotective; however, the major evidence of this effect involves studies of only aerobic training in young animals. The benefits of other exercise protocols such as strength training in aged animals remains unknown. Thus, the aim of this study was to evaluated the effect of aerobic and strength training on spatial memory and hippocampal plasticity in aging rats. Aging Wistar rats performed aerobic or strength training for 50 min 3 to 4 days/week for 8 weeks. Spatial memory and neurotrophic and glutamatergic signaling in the hippocampus of aged rats were evaluated after aerobic or strength training. Both aerobic and strength training improved cognition during the performance of a spatial memory task. Remarkably, the improvement in spatial memory was accompanied by an increase in synaptic plasticity proteins within the hippocampus after exercise training, with some differences in the intracellular functions of those proteins between the 2 exercise protocols. Moreover, neurotrophic signaling (CREB, BDNF, and the P75^{NTR} receptor) increased after training for both exercise protocols, and aerobic exercise specifically increased glutamatergic proteins (NMDA receptor and PSD-95). We also observed a decrease in DNA damage after aerobic training. In contrast, strength training increased levels of PKC α and the pro-inflammatory factors TNF- α and IL-1 β . Overall, our results show that both aerobic and strength training improved spatial memory in aging rats through inducing distinct molecular mechanisms of neuroplasticity. Our findings extend the idea that exercise protocols can be used to improve cognition during aging.

Keywords: Aging; Memory; Aerobic exercise; Strength exercise.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Modelo representativo das neurotrofinas e de seus receptores específicos.....	30
Figura 2. Danos no DNA, mecanismos de reparo e consequências.....	33
Figura 3. Via de Reparo por Excisão de Bases	35
Figura 4. Efeitos do exercício no cérebro.....	39
Figura 5. Esquema do mecanismo em que o BDNF aumenta o reparo do dano oxidativo no DNA em neurônios.....	41
Figura 6. Esquema do desenho experimental.....	45
Figura 7. Figura representativa do aparato utilizado para a realização do teste do Labirinto de Barnes.....	48
Figura 8. Esquema explicativo do Ensaio Cometa.....	51
Figura 9. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre a performance cognitiva em ratos velhos avaliados no teste de Barnes Maze.....	54
Figura 10. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre os níveis de APP e β amiloide.....	55
Figura 11. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre proteínas do sistema glutamatérgico em hipocampo de ratos velhos.....	56
Figura 12. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre a sinalização neurotrófica em hipocampo de ratos velhos.....	57
Figura 13. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre os níveis protéicos de PKC α , TNF- α e IL-1 β em hipocampo de ratos velhos...	58
Figura 14. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre o índice e frequência de danos no DNA e níveis proteicos de APE 1 em hipocampo de ratos velhos.....	59
Figura 15. Esquema explicativo do efeito de dois modelos de treinamento físico sobre parâmetros neuroquímicos em hipocampo de ratos velhos.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Programa de treinamento em esteira.....	46
Tabela 2. Programa de treinamento de força	47

LISTA DE ABREVIATURAS

- APE 1 - endonuclease apurínica 1, do inglês *Apurinic/apyrimidinic endonuclease 1*
- BDNF - fator neurotrófico derivado do encéfalo, do inglês *Brain derived neurotrophic factor*
- BER - reparação por excisão de bases, do inglês *base excision repair*
- CaMKII – proteína quinase II dependente de calmodulina, do inglês *Calcium/calmodulin dependent protein kinase II*
- CREB – proteína ligante ao CRE, do inglês *cyclic responsive element binding protein*
- DNA – ácido desoxirribonucleico, do inglês *deoxyribonucleic acid*
- ERO - espécies reativas de oxigênio
- GABA – ácido gama aminobutírico, do inglês *Gamma-AminoButyric Acid*
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- LTD – depressão de longa duração, do inglês *Long-term depression*
- LTP – potenciação de longa duração, do inglês *Long-term potentiation*
- MAPK - quinase ativada por mitógeno, do inglês *Mitogen Activated Protein Kinases*
- mtDNA - DNA mitocondrial, do inglês *Mitochondrial DNA*
- NF-κB - fator nuclear Kappa B, do inglês *Nuclear factor kappa B*
- NGF – fator de crescimento neural, do inglês *Nerve growth factor*
- NMDA - receptor glutamatérgico do tipo N-metil-D-aspartato
- NT – neurotrofinas
- NT 3 – neurotrofina-3
- NT4 – neurotrofina-4
- OGG1 - DNA glicosilase de 8-oxoguanina, do inglês *Oxoguanine DNA glycosylase*
- PBS – Tampão fosfato-salino, do inglês *Phosphate buffered saline*
- PI3K – proteína fosfatidilinositol-3-quinase, do inglês *Phosphatidylinositol 3-kinase*
- PKC – proteína quinase C, do inglês *Protein kinase C*
- PLC-γ - fosfolipase C-C-γ, do inglês *Phosphoinositide-specific phospholipase C*
- Pol β – DNA polimerase β
- PSD - 95 - proteína de densidade pós-sináptica, do inglês *Postsynaptic density protein 95*
- p75^{NTR} - receptor de neurotrofina p75
- SDS – dodecil sulfato de sódio

SDS-PAGE – eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio

SNC – sistema nervoso central

TNF – fator de necrose tumoral, do inglês *Tumor necrosis factor alpha*

Trk - receptores da família tirosina-quinase, do inglês *Tyrosine kinase*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	26
1.1 Envelhecimento.....	26
1.1.1 Envelhecimento cerebral.....	27
1.1.2 Memória e Envelhecimento	31
1.2 Alterações genéticas no envelhecimento	32
1.3 Exercício físico e envelhecimento	36
1.3.1 Exercício físico, neurotrofinas e reparo do DNA	40
1.4 Justificativa	42
2 OBJETIVOS.....	43
2.1 Geral	43
2.2 Específicos.....	43
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
3.1 Animais.....	44
3.2 Desenho experimental.....	44
3.2.1 Grupos	45
3.3 Protocolo de exercício	45
3.3.1 Treinamento de esteira	45
3.3.2 Treinamento de Força	46
3.4 Teste de memória espacial.....	47
3.5 Eutanásia.....	48
3.6 Avaliações Bioquímicas	49
3.6.1 Níveis de proteínas por <i>Western Blotting</i>	49
3.6.2 Citocinas pró-inflamatórias.....	49
3.7 Ensaio cometa.....	50
3.8 Análise estatística	52
4 RESULTADOS.....	53
4.1 Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre a memória espacial de ratos velhos	55
4.2 Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre a sinalização hipocampal de ratos velhos	57
4.3 Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre níveis de dano no DNA e níveis de APE 1 em hipocampo de ratos velhos	58
5 DISCUSSÃO	60
6 CONCLUSÃO	68
REFERÊNCIAS.....	69
ANEXO.....	92

1 INTRODUÇÃO

1.1 ENVELHECIMENTO

O Envelhecimento biológico é um complexo processo multifatorial, caracterizado por uma progressiva perda da integridade fisiológica, levando a um prejuízo na função e aumento da vulnerabilidade à morte (Xi et al., 2013). Neste sentido, o envelhecimento tem sido sugerido como o principal fator de risco no desenvolvimento de doenças degenerativas como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, câncer, diabetes e doenças cardiovasculares (Ergin et al., 2013; Xi et al., 2013). Fatores fisiológicos, genéticos e ambientais, que promovem ou retardam o processo de envelhecimento, têm sido cada vez mais estudados pela comunidade científica. No entanto, os exatos mecanismos que regem o processo de envelhecimento, principalmente em nível molecular, ainda permanecem obscuros.

Nos últimos anos, houve um aumento da população idosa mundial, e acredita-se que essa população aumente cada vez mais em proporções exponenciais. Dados da Organização Mundial de Saúde (2012) sugerem que, até o ano de 2025, a população mundial contará com quase 2 bilhões de pessoas com idade de sessenta anos ou mais. No Brasil, segundo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população de idosos é de, aproximadamente, 32 milhões, sendo o sexto país com maior número de idosos no mundo. Com esse aumento da população idosa, cresce a preocupação com os problemas associados à saúde, já que com o avanço da idade aumenta muito a incidência de doenças em decorrência das alterações fisiológicas que acompanham o processo de envelhecimento (Wick et al., 2000).

Os fatores fisiológicos, que contribuem para o processo de envelhecimento, compreendem uma série de alterações nas funções orgânicas e mentais devido exclusivamente aos efeitos da idade avançada sobre o organismo, fazendo com que o organismo perca a capacidade de manter o equilíbrio homeostático e que todas as funções fisiológicas gradualmente comecem a declinar (Xi et al., 2013). De acordo com Guimarães e Cunha (2004), fatores ambientais como estilo de vida também desempenham papel fundamental no fenótipo do envelhecimento. Neste contexto, indivíduos idosos são particularmente suscetíveis a desequilíbrios nutricionais, sendo este processo, relacionado com o aumento da mortalidade, risco aumentado

de desnutrição proteico-energética e de nutrientes, susceptibilidade aumentada a infecções e redução da qualidade de vida (Guimarães e Cunha, 2004).

1.1.1 Envelhecimento Cerebral

O envelhecimento está associado com alterações progressivas na função de múltiplos sistemas, incluindo comportamento, sensações, cognição, memória e controle motor (Mahncke et al., 2006). Neste cenário, o papel do cérebro como um integrador central das alterações fisiológicas durante o envelhecimento está sendo alvo de inúmeros estudos (Anderton, 2002; Dröge e Schipper, 2007; Mora et al., 2007; Bishop et al., 2010; Haider et al., 2014).

Evidências sugerem que as funções do cérebro se tornam menos eficientes com a idade, com algum grau de desconexão entre as áreas do cérebro que normalmente funcionam em conjunto em adultos jovens (Yankner et al., 2008; Bishop et al., 2010). Isso pode refletir, pelo menos em parte, na alteração da expressão de genes que afetam a função sináptica, a integridade axonal e a mielinização (Bishop et al., 2010). Assim, o Sistema Nervoso Central (SNC) parece ser o sistema biológico mais comprometido durante o envelhecimento e as alterações na cognição, memória e comportamento observados no idoso se refletem na suscetibilidade dos neurônios e das células da glia (astrócitos e oligodendrócitos) aos mais variados danos no decorrer desse processo (Cançado e Horta, 2006).

Estruturalmente o cérebro de um idoso, quando comparado ao de um jovem, tem seu volume diminuído, sendo que esta diminuição não é uniforme (Drag e Bieliauskas, 2010). Alterações nas substâncias branca e cinzenta na região frontal do cérebro também têm sido observadas, o que causa impacto significativo nos processos cognitivos relacionados a esta região (Pfefferbaum e Sullivan, 2005).

Anderton (2002) observou perda neuronal associada ao envelhecimento sendo que estas alterações podem ou não estar associadas à diminuição no tamanho dos neurônios. Uma das principais consequências dessas alterações morfológicas nos neurônios é a diminuição na síntese de neurotransmissores (Berchtold et al., 2013). Essas perdas celulares no SNC podem se manifestar como disfunções comportamentais, como por exemplo, déficits cognitivos (Cançado e Horta, 2006). Portanto, o estudo dos mecanismos responsáveis pela neurodegeneração e a identificação precoce de alterações moleculares,

tem sido cada vez mais importante para a compreensão das bases biológicas relacionadas com as alterações comportamentais normalmente associadas com o envelhecimento e/ou com as diversas neuropatologias.

Além disso, como a síntese de proteínas é afetada com o avanço da idade, e a ação dos neurotransmissores se dá através de enzimas e receptores de membrana, as alterações nos neurotransmissores podem gerar mudanças funcionais (Bernhardi, 2005). Dessa forma, tem sido relatado alterações do glutamato e seus receptores, presentes na maioria das sinapses excitatórias e responsáveis pelas funções motoras e cognitivas que se encontram alteradas durante o processo de envelhecimento (Zhao et al., 2009). De acordo com Kumar (2015), o receptor glutamatérgico ionotrópico do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) desempenha importante papel na aprendizagem e memória e é crucial na formação da memória espacial.

Os receptores NMDA possuem uma distribuição heterogênea por todo o SNC atingindo sua maior densidade na região CA3 do hipocampo (Zamzow et al., 2013). Zhao e colaboradores (2009) sugerem que a idade avançada está associada a um declínio na função destes receptores e da expressão das subunidades dentro das regiões cerebrais envolvidas na função cerebral superior, incluindo a plasticidade sináptica. Dessa forma, estudos tem observado que a plasticidade sináptica mediada pelo receptor de NMDA e a sua hipofunção desempenham um papel vital nas deficiências cognitivas associadas à idade (Foster, 2012; Zamzow et al., 2013). Possivelmente, a evidência mais forte do comprometimento na função do receptor NMDA vem de estudos fisiológicos que indicam que os potenciais excitatórios pós-sinápticos mediados pelo receptor NMDA são reduzidos em aproximadamente 50-60% em hipocampo de animais idosos (Kumar, 2015).

Os receptores NMDA estão relacionados com várias moléculas importantes na transmissão sináptica, como a proteína de densidade pós-sináptica (PSD-95). PSD-95 está relacionada com sinapses glutamatérgicas regulando a maturação (El-Husseini et al., 2000) e a força (Migaud et al. 1998, Beique e Andrade 2003) das sinapses excitatórias. Assim, qualquer desestabilização dessa molécula, como no envelhecimento, pode acarretar na inibição da plasticidade sináptica (Steiner et al., 2008). Da mesma forma, tem sido sugerido que a árvore dendrítica e o número de sinapses diminuem no envelhecimento e que

estes fatores são prováveis contribuintes para o declínio cognitivo observado neste processo (Yankner et al., 2008).

Por outro lado, evidências sugerem diminuição dos níveis de acetilcolina, dopamina e serotonina, ácido gama-aminobutírico (GABA) e das endorfinas (Cançado e Horta, 2006; Haider et al., 2014). Estes, por sua vez, também são considerados importantes neurotransmissores envolvidos com os processos de memória. Assim, a diminuição destes pode comprometer a transmissão sináptica e a potenciação e depressão de longa duração (LTP/LTD), responsáveis pelas disfunções cognitivas e motoras no indivíduo idoso (Pires, 2009).

A plasticidade sináptica pode ser afetada pela redução de moléculas conhecidas como neurotrofinas (NT) durante o processo de envelhecimento (Mattson et al., 2004; Mora et al., 2007). Foi observado que a infusão desses fatores no encéfalo de animais velhos atenua os déficits cognitivos e motores produzidos por alterações colinérgicas e dopaminérgicas, respectivamente (Mora et al., 2007). Estas moléculas atuam como fatores de crescimento, sendo essenciais para a diferenciação, crescimento e a sobrevivência de neurônios e células gliais assim como na modulação da transmissão e plasticidade sináptica (Lewin e Barde, 1996).

Assim como outras moléculas, as NT são sintetizadas a partir de precursores, denominados pró-neurotrofinas, as quais são clivadas proteoliticamente produzindo as NT na sua forma madura (Lu et al., 2005). Estas moléculas são armazenadas no complexo de golgi e então transportadas ao terminal axônico pré-sináptico ou dendritos pós-sinápticos onde são secretadas (Lewin e Barde, 1996). No cérebro de mamíferos, quatro NT foram identificadas: fator de crescimento neural (NGF), fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), neurotrofina-3 (NT 3) e neurotrofina-4 (NT 4). Estas moléculas se ligam a duas classes distintas de receptores, o receptor de neurotrofina p75 (p75^{NTR}), e os receptores da família tirosina-quinase (Trk), que inclui Trk-A, Trk-B e Trk-C. Ao contrário do receptor p75^{NTR}, que tem uma afinidade semelhante para todas as NTs e pode promover morte celular por apoptose, cada receptor Trk liga-se seletivamente a uma NT diferente promovendo a ativação de vias relacionadas à sobrevivência das células (Lu et al., 2005). O NGF liga-se preferencialmente ao Trk-A, o BDNF e o NT-4 ligam-se ao Trk-B e o NT-3 liga-se ao Trk-C (Figura 1) (Lim et al., 2003; Lu et al., 2005).

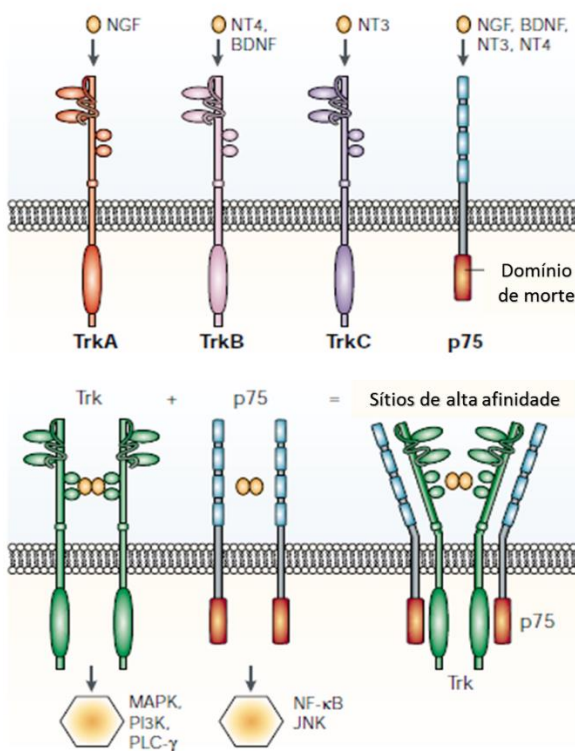


Figura 1. Modelo representativo das neurotrofinas e de seus receptores específicos. As neurotrofinas ligam-se seletivamente a receptores específicos de Trk promovendo a sua dimerização e ativação de várias vias de transdução de sinal. O NGF liga-se em alta afinidade ao Trk-A, o BDNF e o NT-4 ligam-se ao Trk-B e o NT-3 liga-se ao Trk-C, ao passo que todas as pro-neurotrofinas se ligam ao receptor p75^{NTR} ativando cascatas de morte celular. NGF = Fator de crescimento neural; BDNF = fator neurotrófico derivado do encéfalo; NT-3 = neurotrofina 3; NT4 = Neurotrofina 4 (Adaptado de Chao, 2003).

Importantes vias de sinalização podem ser ativadas pelas NT através da interação com os receptores da família Trk: i) a via da x fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K), a qual pode suprimir a morte celular por inibição da apoptose (Berridge et al., 1989); ii) a via da quinase ativada por mitógeno (MAPK), que estimula a atividade e/ou a

expressão de proteínas anti-apoptóticas (Walz et al., 2000); iii) a via da Ras, Rap-1, ERK e fosfolipase C- γ (PLC- γ) que estão envolvidas na modulação da plasticidade fisiológica (Wu e Pardridge, 1999). Assim, supõe-se que a viabilidade neuronal pode também ser afetada pela redução persistente dessas NT no SNC (Du et al., 2003).

1.1.2 Memória e Envelhecimento

A memória está envolvida no processo de codificação e armazenamento de informações, persistência e evocação das informações adquiridas. Cada uma dessas etapas pode ser caracterizada por alterações nos níveis celular, molecular e comportamental (Bonini et al., 2007; Cammarota et al., 2007). Diferentes classificações vêm sendo propostas para as memórias, considerando sua função, conteúdo e tempo de duração. A memória espacial, por exemplo, está relacionada com sua habilidade para codificar, armazenar e recuperar informações sobre localizações no ambiente (Helene e Xavier, 2006). Neste cenário, surge o hipocampo, região crucial para a aprendizagem e formação da memória espacial em diferentes grupos de mamíferos, além de estar envolvido na memória declarativa, contextual e episódica em seres humanos (Burger, 2010; Duzel et al., 2016).

O hipocampo é uma estrutura subcortical do lobo temporal que compõe o sistema límbico formado por duas regiões principais: o giro dentado e o Corno de Amon (CA), que por sua vez é subdividido nas regiões CA1, CA2 e CA3. Conexões sinápticas do hipocampo incluem a via perforante, as fibras musgosas, e a via colateral de Schaffer (Izquierdo et al., 1998).

Diferentes vias de sinalização estão envolvidas no processo de memória no hipocampo. Os receptores glutamatérgicos NMDA, como mencionado anteriormente, desempenham funções cerebrais essenciais que vão desde a potenciação em longo prazo (LTP) até a plasticidade sináptica, podendo ser considerado um dos receptores fundamentais do SNC (Wang e Peng, 2016). Além do NMDA, cascatas de sinalização que incluem a ativação da proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina (CaMK), proteína quinase C (PKC), proteína quinase A (PKA) e outras quinases estão envolvidas no processo de consolidação e armazenamento da memória (Bonini et al., 2007; Cammarota et al., 2007). Os efeitos de PKC, por exemplo, tem sido diretamente associados com melhora no aprendizado e memória, participando de processos de neuroplasticidade e regulando a

excitabilidade neuronal (Hongpaisan et al., 2013). Neste sentido, estudos têm observado redução da atividade de PKC em hipocampo de animais com déficits de aprendizado (Bonini et al., 2007) e, em animais velhos (Van der Zee et al., 2004).

Déficits na estrutura e função do hipocampo, relacionados com a redução da memória associada com o avanço da idade, são observados em diversos estudos (Moore et al., 1993; Morel et al., 2015; Piskorowski et al., 2016). Estes déficits possivelmente estão relacionados com alterações nas diferentes vias de sinalização envolvidas nos processos de memória (Wang e Peng, 2016). O envelhecimento em si não conduz a um declínio global da memória, mas afeta diferentemente os aspectos específicos desta. A memória envolve diferentes áreas cerebrais, e pode ser analisada em diversos subcomponentes. Sharma et al. (2010) afirmam que o envelhecimento torna a memória episódica vulnerável, ou seja, idosos são mais susceptíveis a esquecerem do contexto de ocorrência de um evento do que o evento propriamente dito.

Em roedores, déficits no desempenho de tarefas que envolvem memória espacial e operacional são induzidos pelo envelhecimento (Segovia et al., 2009). Por isso, testes comportamentais realizados com animais fornecem uma riqueza de conhecimento sobre tarefas que dependem da integridade do hipocampo, permitindo assim uma maior exploração da sua estrutura e função (Driscoll e Sutherland, 2005). Assim, testes de memória como o de habituação em campo aberto, reconhecimento de objetos e testes de memória espacial (como o labirinto de Barnes) são amplamente utilizados em animais (Mello et al., 2008).

1.2 ALTERAÇÕES GENÉTICAS NO ENVELHECIMENTO

Os mecanismos genéticos são modulados através da manutenção e reparo celular, pois o acúmulo de mutações ao acaso, combinadas com fatores genéticos e ambientais, como a expressão de “genes específicos do envelhecimento” relacionados com a idade formam os fenótipos individuais para o envelhecimento (Jansen-Dürr e Osiewacz, 2002). Neste contexto, várias teorias foram propostas para explicar geneticamente o processo do envelhecimento, e as alterações na estrutura do ácido desoxirribonucleico (DNA) são encontradas como uma das principais causas desse processo (Akbari e Krokan, 2008).

O DNA é um polímero de apenas quatro subunidades encontrado em todas as células de todos os seres vivos e está exposto a uma infinidade de agentes genotóxicos, como as radiações, agrotóxicos, fumaças, componentes químicos e os próprios produtos do metabolismo celular (Silva et al., 2003). As reações oxidativas prolongadas como a desaminação hidrolítica ou processos de alquilação podem modificar as bases do DNA, ou mesmo, por vezes, causar uma completa perda de bases na molécula, resultando na ruptura de uma das fitas (Noschang et al., 2009). Assim, danos no DNA podem ser definidos como qualquer modificação nas propriedades de codificação do DNA.

Estudos observaram que o DNA é progressivamente danificado durante o envelhecimento (Hoeijmakers, 2007; Akbari e Krokan, 2008). Neste cenário, para evitar o dano em função das alterações no DNA, os organismos ao longo da evolução desenvolveram uma rede complexa de reparo, prevenindo assim suas possíveis consequências deletérias (Lord e Ashworth, 2012). As vias de reparo são capazes de reconhecer um dano e removê-lo da molécula ou ainda as células podem bloquear sua replicação, impedindo a progressão do ciclo celular. Por fim, se o dano for severo, um último mecanismo de segurança é ativado, a morte celular por apoptose, impedindo que células defeituosas continuem a se dividir (Hoeijmakers, 2009). Um esquema dos principais danos do DNA, seus mecanismos de reparo e as consequências destes processos pode ser visto na Figura 2.

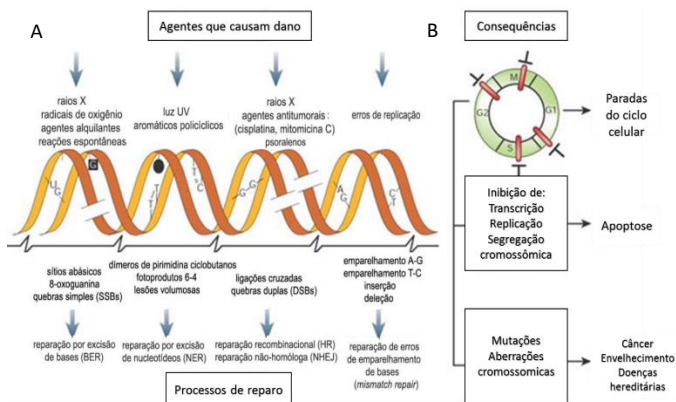


Figura 2. Danos no DNA, mecanismos de reparação e consequências. A) agentes que causam dano no DNA (parte superior); lesões induzidas por estes agentes (meio); principais mecanismos de reparação responsáveis pela remoção

das lesões (parte inferior). B) efeitos agudos dos danos na progressão do ciclo celular, conduzindo a paradas nas fases G1, S, G2 ou M (parte superior) e no metabolismo do DNA (meio). Consequências dos danos em longo prazo (parte inferior) incluem alterações permanentes na sequência do DNA (mutações pontuais que afetam um único gene ou aberrações cromossômicas que devem envolver diversos genes) e seus efeitos biológicos (adaptado de Hoeijmakers, 2007).

A via de reparo do dano envolve a reversão direta do dano, o reparo por excisão (excisão de nucleotídeos, excisão de bases e excisão de erros de emparelhamento de bases) e reparo de quebras duplas (recombinação homóloga e não homóloga) (Dianov et al., 2003). Estas vias não são exclusivas para reparar os diferentes tipos de danos, podendo ocorrer interação entre dois ou mais sistemas na remoção de um dano. E, ainda, não somente as proteínas de reparo podem participar em diferentes vias, mas outras proteínas que desempenham funções celulares específicas podem se ligar ao DNA e influenciar o curso da reparação (Downs et al., 2007).

Nos organismos eucarióticos, o reparo por excisão de bases (BER) é o principal mecanismo para reparar lesões promovidas por alquilações e danos oxidativos no DNA. A via BER, que atua na reparação destas lesões, é uma via complexa com endonucleases envolvidas, que pode ser subdividida em cinco passos: (i) remoção da base danificada por ação de uma DNA-glicosilase, (ii) incisão no sítio abásico resultante (sítio apurínico-apirimidínico ou sítio AP) por uma AP-endonuclease, (iii) processamento das extremidades terminais, (iv) preenchimento do sítio AP e (v) reconstituição da fita danificada (Fortini et al., 2003). Para a realização dessas etapas, diversas enzimas de reparo estão envolvidas como a DNA glicosilase de 8-oxoguanina (OGG1) que é responsável pelo reparo de produtos derivados de guaninas, clivando a ligação glicosídica entre a base danificada e o açúcar; a endonuclease apurínica 1 (APE1), que hidroliza a ligação fosfodiéster na extremidade 5' da lesão; e a DNA polimerase β (Pol β) que insere um nucleotídeo correto e excisa a extremidade 5'dRP após a incisão de APE1 (Figura 3) (Dianov et al., 2003; Fortini et al., 2003; Kelley et al., 2003).

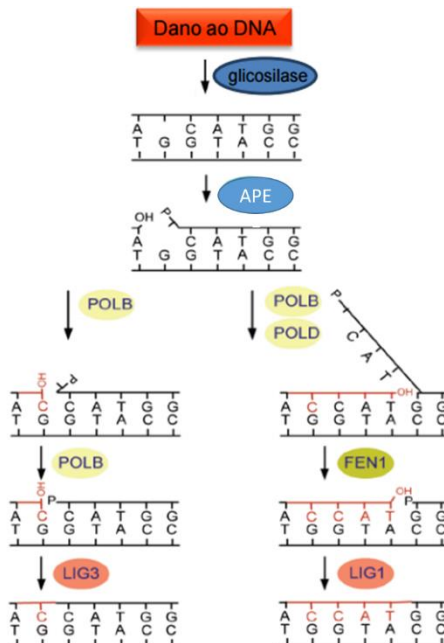


Figura 3. Via de Reparo por Excisão de Bases (BER). A via BER inicia com o reconhecimento da base lesionada por uma enzima denominada DNA glicosilase. Essa enzima excisa a base por meio da hidrólise da ligação N-β-glicosídica, formando um sítio abásico. Esse sítio, por sua vez, é reconhecido e clivado pela enzima AP endonuclease 1 (APE 1). A DNA polimerase β (Polβ) insere um nucleotídeo durante a síntese do reparo e excisa a extremidade 5' dRP após a incisão de APE1. Após a remoção da alça suspensa, a fita é selada pela DNA ligase (Adaptada de Robertson et al., 2009).

Estudos tem observado redução das atividades das DNA glicosilases relacionada à idade em cinco diferentes regiões cerebrais (núcleo caudado, córtex frontal, hipocampo, cerebelo e tronco cerebral) (Imam et al., 2006; Weissman et al., 2009). Assim, a deficiência no reparo do DNA pode desempenhar um papel significativo no processo de envelhecimento, bem como contribuir para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas relacionadas com este processo (Imam et al., 2006)

As mutações e deleções no DNA mitocondrial (mtDNA) também contribuem para o envelhecimento (Park e Larsson, 2005).

Essas alterações são decorrentes do microambiente oxidativo das mitocôndrias, da falta de histonas e da eficiência limitada dos mecanismos de reparo do mtDNA em comparação com o DNA nuclear (Linnane et al., 1989). Assim, os sistemas de estabilidade genômica também incluem mecanismos específicos para garantir a integridade do mtDNA e para manter o comprimento e a funcionalidade adequada dos telômeros (Blackburn et al., 2006; Kazak et al., 2012). Estes últimos, desempenham um papel importante na senescência celular (Reaper et al., 2004; Takubo et al., 2010), sendo reconhecidos como marcadores biológicos do envelhecimento. O encurtamento dos telômeros pode não estar primariamente envolvido na indução da senescência, mas com o acúmulo de estresse oxidativo e do desgaste dos mesmos, aumenta a probabilidade de uma célula entrar em senescência em diferentes tecidos e órgãos (Oeseburg et al., 2010). Assim, a regulação do processo de envelhecimento é altamente complexa, envolvendo alterações neuroquímicas, musculares, danos no DNA e oxidação celular.

1.3 EXERCÍCIO FÍSICO E ENVELHECIMENTO

Frente ao aumento da população idosa são muito importantes as pesquisas relacionadas aos mecanismos que promovem o envelhecimento, para que medidas de promoção de saúde possam reduzir a prevalência de doenças crônicas através da melhora da qualidade de vida (Warburton et al., 2006). Entre as medidas de promoção de saúde, o exercício físico é um dos principais responsáveis pela prevenção a morbididades e pela redução no risco de mortalidade por doenças cardiovasculares, diabetes e obesidade (Warburton et al., 2006; Bassi et al., 2016; Lavie et al., 2016).

Evidências experimentais sugerem que em nível cerebral, o exercício físico melhora a cognição (Lautenschlager et al., 2012; Stranaham e Mattson, 2012), neutraliza o declínio da memória relacionada à idade (Van Praag et al., 2005; Mello et al., 2008) e atrasa o aparecimento de doenças neurodegenerativas como a doença de Parkinson (Tuon et al., 2012; 2015) e a doença de Alzheimer (Larson et al., 2006; Williams, 2014). Além disso, foi demonstrado que o exercício físico apresenta potencial na prevenção e tratamento de lesões no cérebro (Gobbo e O'Mara, 2005) e na depressão (Tuon et al., 2014). No entanto, a maioria dessas evidências relacionam os benefícios do exercício na modalidade aeróbio e são poucos que relacionam estes

efeitos no envelhecimento. Os efeitos do treinamento de força sobre a função cognitiva têm sido discutidos, porém, seus mecanismos biológicos permanecem mal esclarecidos.

Estudos demonstraram a influência do exercício físico na neurogênese e na plasticidade cerebral, mediados pelas NT (Leckie et al., 2014; Yang et al., 2014). Nesse contexto, pesquisadores tem sugerido que o exercício físico é uma importante ferramenta capaz de aumentar os níveis de NT no encéfalo de animais. O exercício, por exemplo, aumenta a expressão de BDNF no corpo estriado (Marais et al., 2009), no hipocampo (Aguilar et al., 2011) e no córtex (Neeper et al., 1996) de roedores; causa uma supra-regulação de BDNF, juntamente com o seu receptor TrK (Li et al, 2008), melhorando assim a cognição (Gómez-Pinilla et al, 2002; Vaynman et al, 2004; Van Praag et al, 2005; Creer et al, 2010; Bechara e Kelly, 2013). Além disso, Liu et al. (2011) mostraram que o exercício aumentou a expressão hipocampal de BDNF, em conjunto com a diminuição do declínio cognitivo e morte neuronal em camundongos transgênicos para Doença de Alzheimer (que super-expressam a proteína precursora amiloide – APP). Notavelmente, tem sido observado que o exercício também pode amplificar a eficácia sináptica, na medida em que genes relacionados à função sináptica como a sinapsina I e sinaptofisina (envolvidas na liberação e estrutura de vesículas sinápticas) e a sinaptogamina (envolvida na formação de vesículas sinápticas) têm sua expressão aumentada em resposta ao exercício, com este efeito sendo mediado via BDNF (Molteni et al., 2002).

A síntese de neurotransmissores também pode ser influenciada pelo exercício, assim como a vasculatura cerebral e a modulação da inflamação e do sistema imunológico (Lee et al., 2006; Van Praag, 2008). Por exemplo, Berchtold e colaboradores (2002) mostraram aumento dos níveis de serotonina e acetilcolina em cérebro de ratos após exercício físico, e neurônios GABAérgicos parecem desempenhar um papel chave nos benefícios cognitivos induzidos pelo exercício. Mourão et al. (2014) observaram que o exercício também promove alterações neurolásticas positivas nas sinapses glutamatérgicas. Deste modo, todos esses fatores, tomados em conjunto, são apontados como responsáveis pelos efeitos neuroprotetores do exercício físico (Van Praag, 2008).

As respostas metabólicas e moleculares para os diferentes tipos de exercício são distintas, embora os exercícios, independentemente de sua natureza, possam promover individualmente benefícios para a saúde

(Palomero et al., 2008; Kang et al., 2009; Seene e Kaasik, 2012). Neste contexto, vários tipos de exercício têm sido testados para avaliar seus efeitos sobre o cérebro. No entanto, os mecanismos moleculares específicos de neuroplasticidade que respondem aos diferentes aspectos do exercício físico (tipo de treino, frequência, volume e duração) permanecem desconhecidos (Redila et al., 2006). Além disso, o exercício físico pode ter influência negativa sobre o organismo, dependendo da oferta de energia e da idade do indivíduo, bem como a força, frequência e duração do exercício (Radak, 2013). Assim, pesquisas sugerem que o exercício físico exaustivo pode causar efeitos contrários, induzindo o estresse oxidativo e, consequentemente, aumentando o dano às proteínas, lipídeos e DNA (Sastre et al., 1992; Aguiló et al., 2005; Tauler et al., 2006).

O exercício moderado, principalmente o aeróbio, desencadeia respostas regulatórias que retardam, pelo menos em parte, o declínio mitocondrial do cérebro, assim como, o aumento do estresse oxidativo e diminuição das atividades enzimáticas mitocondriais observadas no envelhecimento (Navarro et al., 2007; Arcoverde et al., 2008; Lautenschlager et al., 2012; Dibble et al., 2009; Weintraub e Morgan, 2011; Tuon et al., 2012). Deste modo, o exercício aeróbio diminui a incidência de doenças associadas ao estresse oxidativo através de respostas adaptativas nos diferentes tecidos (Radak et al., 2001; Katzmarzyk e Janssen, 2004; Tremblay et al., 2007). Esse processo de adaptação no cérebro envolve o aumento do fluxo sanguíneo, a ativação do sistema antioxidante, incremento da atividade enzimática do sistema de reparo oxidativo, resistência aumentada para o estresse oxidativo, biogênese mitocondrial e baixos níveis de dano no DNA (Radak et al., 2008, 2016) (Figura 4). Todos esses fatores, tomados em conjunto melhoram a plasticidade sináptica. No que se refere aos marcadores neuroquímicos, o treinamento reduz os níveis de lipoperoxidação e carbonilação de proteínas no estriado, cerebelo, hipocampo e córtex cerebral (Ogonovszky et al., 2005; Jolitha et al., 2006, Aguiar et al., 2011; Tuon et al., 2012).

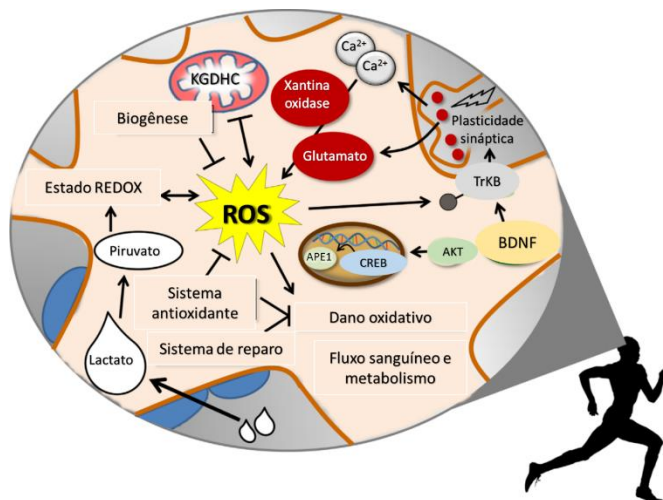


Figura 4. Efeitos do exercício no cérebro. O exercício aumenta o fluxo sanguíneo para o metabolismo do cérebro, alterando assim o estado redox dos neurónios. As alterações adaptativas envolvem regulação de enzimas antioxidantes e do reparo, biogênese mitocondrial e regulação redox de diferentes vias de sinalização diferentes (Adaptado de Radak et al., 2016).

Por outro lado, o treinamento de força tem sido considerado uma intervenção promissora para reverter a perda da função muscular e a deterioração do músculo associada com a idade avançada, além de também diminuir a produção de ERO e aumentar as defesas antioxidantes (Raguso et al., 2006; Johnston et al., 2008; Seene e Kaasik, 2012). Além disso, estudos tem observado que o exercício nessa modalidade aumenta a força muscular, diminui possíveis alterações no DNA mitocondrial e aumenta a fosforilação oxidativa, fatores que contribuem para minimizar os efeitos do envelhecimento muscular (Murphy et al., 2008; Hanson, et al., 2009).

Em relação aos tipos de treinamento realizados com animais, a modalidade de treinamento mais utilizada é a corrida, através do treinamento em esteira. Para alguns autores a esteira, por ser uma corrida forçada, causa estresse físico e psicológico, diferente da corrida voluntária (Sherwin, 1998). Entretanto, o exercício em si é considerado uma forma de estresse, pois desafia a homeostase e se torna benéfico apenas quando feito adequadamente (Mastorakos et al., 2005). Por outro lado, os modelos de treinamento de força mais utilizados aumentam a

massa muscular nos animais em períodos curtos de tempo. Pensando nisso, Hornberger e Farrar (2004) propuseram um treinamento de resistência progressiva em um modelo animal que imita o treinamento humano e é capaz de induzir hipertrofia de forma semelhante à dos seres humanos. Este modelo utiliza o princípio da sobrecarga e é uma ferramenta útil para estudar os efeitos da adaptação celular durante o treinamento de força (Hornberger e Farrar, 2004). No entanto, estes autores avaliaram somente as adaptações musculares neste modelo experimental, sendo ainda desconhecidas as alterações provocadas na neuroplasticidade.

Considerando os estudos anteriormente citados, o exercício moderado regular, nas suas diversas modalidades, parece ser significativamente benéfico à saúde e, atualmente, tem sido considerado como um recurso não farmacológico capaz de contribuir tanto na prevenção quanto no tratamento de vários tipos de doenças associadas ao envelhecimento.

1.3.1 Exercício físico, neurotrofinas e reparo do DNA

Em recente estudo Yang e colaboradores (2014) sugerem que existe uma relação entre o exercício físico, BDNF e o reparo do DNA. Essa constatação decorre do fato de que em condições normais, os neurônios expressam quantidades suficientes de enzimas envolvidas no reparo por excisão de bases. No entanto, quando os níveis de atividade sináptica excitatória são elevados, ou durante uma lesão, doenças neurodegenerativas e envelhecimento, os níveis basais de enzimas de reparo são insuficientes para evitar o acúmulo excessivo de lesões no DNA. Dessa forma, a ativação de receptores de BDNF (TrkB) resulta na ativação de PI3K, que fosforila AKT. A AKT, por sua vez, fosforila o fator de transcrição CREB (pCREB), que, em seguida, liga-se ao promotor de genes que induzem a expressão de enzimas de reparo, como a OGG1 e a APE1 (Reichardt, 2006; Yang, 2010) (Figura 5). A AKT também pode ativar outras moléculas, como os fatores de transcrição FoxO, envolvidos em processos como parada do ciclo celular, reparo do DNA, a desintoxicação de ERO, a apoptose e a autofagia por regulação positiva de programas específicos de expressão gênica (Zhao et al., 2004). Dessa forma, o exercício físico, por promover aumento na expressão de BDNF, conduz a um aumento da resistência dos neurônios aos danos oxidativos no DNA bem como

regula os processos de reparo no DNA lesado (Marais et al., 2009; Aguiar et al., 2011; Yang et al., 2014).

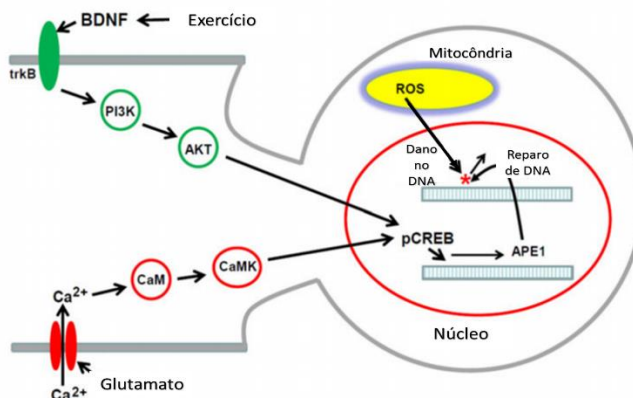


Figura 5. Esquema do mecanismo em que o BDNF aumenta o reparo do dano oxidativo no DNA em neurônios. A ativação de receptores de BDNF (Trk-B) resulta na ativação de PI3K, que fosforila AKT. AKT, por sua vez, fosforila o fator de transcrição CREB (pCREB), que, em seguida, liga-se ao promotor de genes que induzem a expressão de enzimas de reparo, principalmente a endonuclease apurínica 1 (APE1). Fatores ambientais, como o exercício físico podem aumentar a ativação dos receptores Trk-B (Adaptado de Yang et al., 2014).

Além disso, o BDNF é produzido e liberado nos neurônios em resposta a atividade sináptica excitatória que ocorre durante processos fisiológicos como memória e aprendizado e exercício (Gómez-Pinilla, 2002). Neste contexto, a ativação de receptores glutamatérgicos parece estar envolvida na estimulação da produção de BDNF através da via de sinalização envolvendo o influxo de cálcio e ativação da CaMK (Marini et al., 2007) (Figura 5). Assim, o BDNF, o receptor NMDA, PI3K e a PSD-95 estão envolvidos na potenciação de longa duração, e alterações nesta via podem comprometer as funções cognitivas e motoras no indivíduo idoso (Yoshii e Constantine, 2007).

Com base no exposto acima, alterações na expressão ou no funcionamento de NT podem levar a uma disfunção no desenvolvimento neural, alteração na plasticidade cerebral e a anormalidades estruturais durante o envelhecimento e, enquanto que o exercício físico pode

atenuar estas alterações. No entanto, os exatos mecanismos que são induzidos através do exercício físico ainda não estão completamente esclarecidos.

1.4 JUSTIFICATIVA

O processo de envelhecimento é altamente complexo e multifatorial e o estudo desse processo tem gerado um grande número de teorias na literatura devido ao aumento de doenças degenerativas que são características desta fase da vida. Neste cenário, tem sido amplamente estudado que o exercício físico pode ser um fator responsável pela prevenção a morbididades e redução no risco de mortalidade e, além disso, apresenta efeitos neuroprotetores. No entanto, a maioria das pesquisas reportam os efeitos da modalidade de exercício aeróbio permanecendo os efeitos do exercício de força sobre o cérebro desconhecidos. Sabendo que alterações neuroplásticas estão envolvidas no envelhecimento e que o exercício físico pode atenuar essas alterações, torna-se importante o desenvolvimento de novas pesquisas relativas às diferentes modalidades de exercício físico com intuito de esclarecer os mecanismos (moleculares, celulares) envolvidos nesse processo.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar os efeitos de dois protocolos de exercício físico sobre a plasticidade hipocampal no envelhecimento.

2.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do treinamento de força e aeróbio sobre a memória espacial de ratos velhos.
- Avaliar o efeito do treinamento de força e aeróbio sobre os níveis de APP e β amiloide no hipocampo de ratos velhos.
- Avaliar o efeito do treinamento de força e aeróbio sobre a sinalização glutamatérgica no hipocampo de ratos velhos.
- Avaliar o efeito do treinamento de força e aeróbio sobre a sinalização neurotrófica no hipocampo de ratos velhos.
- Avaliar o efeito do treinamento de força e aeróbio sobre os níveis de FoxO, PKC α e citocinas pró-inflamatórias no hipocampo de ratos velhos.
- Avaliar o efeito do treinamento de força e aeróbio sobre os níveis proteicos de APE1 no hipocampo de ratos velhos.
- Avaliar o efeito do treinamento de força e aeróbio sobre danos no DNA no hipocampo de ratos velhos

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício e no Laboratório de Biologia Celular e Molecular da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC). Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as recomendações internacionais para o cuidado e o uso de animais de laboratório, além das recomendações para o uso de animais do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), lei Arouca nº 11.794/2008. Este projeto foi executado após aprovação pela Comissão de Ética para o Uso de Animais da Universidade do Extremo Sul Catarinense sob protocolo de número 16/ 2013.

3.1 ANIMAIS

Inicialmente, foram utilizados 30 ratos machos, da linhagem Wistar, de 24 meses, obtidos do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Os animais foram alojados em caixas de polietileno, com comida e água *ad libitum* e mantidos em um ciclo de 12 horas claro - escuro (07:00 às 19:00) (Claro 7:00h), com temperatura controlada de $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

3.2 DESENHO EXPERIMENTAL

Os animais foram submetidos a uma semana de adaptação seguida de oito semanas de treinamento em esteira ou de força ou sem treinamento. 24 horas após o último treino foi realizado o teste de memória espacial, através do Labirinto de Barnes. 48 horas após o período de treinamento os animais foram submetidos a eutanásia e os hipocampus foram removidos, processados e armazenados para análise dos parâmetros genéticos e bioquímicos (Figura 6).

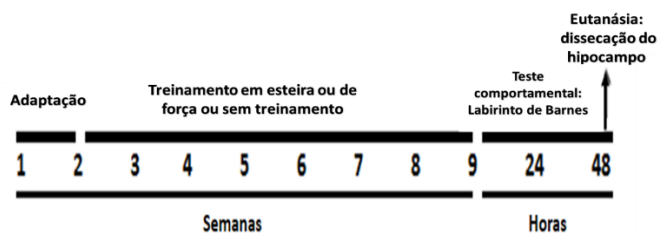


Figura 6. Esquema do desenho experimental.

3.2.1 Grupos

Os animais foram randomicamente divididos em 3 grupos inicialmente com 10 animais cada, como segue:

Grupo 1	Não treinados
Grupo 2	Treinamento aeróbio (esteira)
Grupo 3	Treinamento de força

3.3 PROTOCOLO DE EXERCÍCIO

Os animais dos grupos 2 e 3 foram expostos a dois diferentes programas de treinamento. Após uma semana de adaptação os animais foram treinados como descrito abaixo:

3.3.1 Treinamento de Esteira

Para o treinamento em esteira, todos os animais foram ambientados em uma esteira ergométrica, com nove canais (10 m.min⁻¹, sem inclinação, 10 min.dia⁻¹) durante uma semana, com o objetivo de reduzir o estresse no ambiente novo. Os ratos não receberam nenhum estímulo para correr. Após este período, os animais foram submetidos a um programa de treinamento de corrida com níveis progressivos de intensidade (13-17 m min⁻¹, sem inclinação) durante 3 a 4 dias por semana, durante 8 semanas, por um período total de 60 dias. Cada

treinamento foi de 60 min, com um intervalo de 48 h entre os treinamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Programa de treinamento de esteira

Semana	Dias/semana	Velocidade km/h	Grau (%)	Duração (min)
(adaptação)	5	0,6	0	5-10
1	3	0,8	0	30
2	4	0,8	0	60
3	3	1	10	60
4	4	1	10	60
5	3	1	10	60
6	4	1	10	60
7	3	1,2	10	60
8	4	1,2	10	60

3.3.2 Treinamento de Força

O treinamento de força foi realizado de acordo com Hornberger e Farrar (2004), utilizando um aparato, com 1 metro de altura, contendo 45 graus, com 2 centímetros de espessamento entre os mesmos, e 85° de inclinação. Os animais foram inicialmente ambientados por uma semana. Quarenta e oito horas após a familiarização, o treinamento de resistência foi iniciado utilizando tubos com pesos presos à cauda. Os ratos foram posicionados na base do aparelho e motivados a subir a escada por 3 séries de 8 à 12 repetições com 1 minuto de descanso entre as repetições e 2 minutos entre as séries. O peso inicial foi de 25% da massa corporal do animal, aumentando gradualmente ao longo das 8 semanas de treinamento. As sessões de treinamento foram conduzidas 3 ou 4 vezes por semana. Cada sessão teve uma duração de 40-50 minutos, com um intervalo de 48 horas entre as sessões. Os animais foram estimulados manualmente para fornecer motivação para subir quando necessário (Tabela 2).

Tabela 2. Programa de treinamento de força

Semana	Dias/semana	Series	Repetições	Intervalo	Sobrecarga (% massa corporal)
(adaptação)	5	3	8-12	1 minuto	0%
1	3	3	8-12	1 minuto	25%
2	4	4	8-12	1 minuto	25%
3	3	4	8-12	1 minuto	50%
4	4	5	8-12	1 minuto	50%
5	3	5	8-12	2 minutos	75%
6	4	6	8-12	2 minutos	75%
7	3	6	8-12	2 minutos	100%
8	4	6	8-12	2 minutos	100%

3.4 TESTE DE MEMÓRIA ESPACIAL – LABIRINTO DE BARNES

O Labirinto de Barnes (1979) foi utilizado para avaliar a memória espacial 24 horas após a última sessão de treinamento. O teste consiste de uma plataforma circular com 20 orifícios, 19 vazios e um com uma caixa de escape (Figura 7). A sala onde está o aparato foi equipada com pistas visuais para auxiliar no processo de memória espacial. Os animais foram ambientados em um ambiente de baixa luz por 30min e colocados no centro da plataforma com uma luz de alta intensidade. Foi avaliada a latência para os animais encontrarem a caixa escape com o tempo máximo de 60s. Os animais que não encontrarem a caixa escape durante este tempo foram colocados gentilmente dentro da caixa e permaneceram lá por 20s. Cada animal fez quatro sessões de treinamento diário durante 3 dias (fase de aquisição da memória). No quarto dia a caixa escape foi retirada e os animais colocados no centro da plataforma. Dessa forma, o tempo que os animais passaram no quadrante onde estava a caixa escape foi avaliado para demonstrar a retenção da memória.

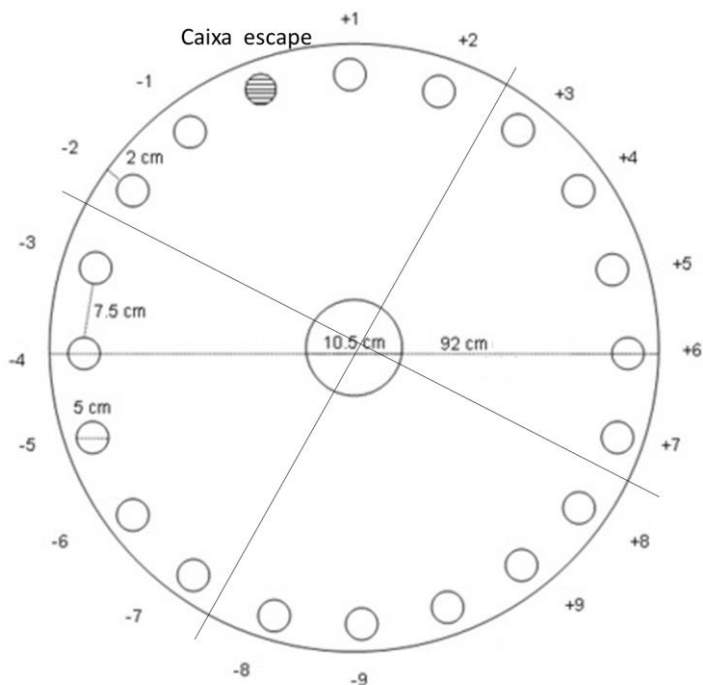


Figura 7. Figura representativa do aparato utilizado para a realização do teste do Labirinto de Barnes. A plataforma circular apresenta 20 buracos no total, sendo 19 buracos vazios e um buraco com uma caixa de escape.

3.5 EUTANÁSIA

Quarenta e oito horas após o período de treinamento os animais foram submetidos a eutanásia por decapitação e os hipocampus foram removidos, processados e armazenados para análise dos parâmetros genéticos e bioquímicos.

3.6 AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS

3.6.1 Níveis de proteínas por *Western Blotting*

A quantificação das proteínas, BDNF, Trk-B, P75^{NTR}, CREB, APE1, NMDA, CaMK, sinaptofisina, PSD-95, FoxO3, APP e β amiloide foram mensuradas por *Western blotting*. Para tanto, as amostras foram homogeneizadas em tampão Laemmli (Tris-HCl 62,5 mM, SDS pH 6,8, 1%, glicerol 10%) e posteriormente as concentrações proteicas foram analisadas pelo método de Bradford (1976), e utilizadas para normalizar a quantidade de proteína, sendo utilizado 30 μ g de proteínas para a eletroforese em gel monodimensional de dodecil sulfato de sódio-poliacrilamida (SDS-PAGE) em um sistema descontínuo usando gel 8-12%. As proteínas foram separadas, e em seguida, transferidas para membranas de nitrocelulose utilizando tampão contendo Tris 20 mmol/L, glicina 150 mmol/L, metanol 20% (v/v) e SDS 0,02% (p/v) (pH 8,2) em uma unidade de transferência Bio-Rad resfriada. Após, os sítios de proteínas inespecíficos foram bloqueados por uma hora de incubação com solução bloqueadora (5% albumina) em tampão Tris salina 0,1% (p/v), tween-20. As membranas foram processadas por imuno-deteção utilizando os anticorpos primários específicos. Após os anticorpos primários serem removidos, as membranas foram incubadas com anticorpos secundários. Por fim, as membranas foram reveladas por quimiluminescência. Após a exposição, as membranas foram então retiradas e incubadas com um anticorpo monoclonal de ratos para β -Actina e os filmes antorradiográficos analisados e quantificados através de um densitômetro de imagem (Imagemaster VDS CI, Amersham Biosciences Europe, IT).

3.6.2 Citocinas pró-inflamatórias

As amostras do hipocampo foram homogeneizadas em tampão fosfato contendo 0,05% de Tween 20, fluoreto de fenilmetilsulfonil 0,1 mM, cloreto de benzetônio 0,1 mM, EDTA a 10 mM e 20 UI aprotinina. O homogeneizado foi centrifugado a 3000 x g por 10 minutos e os sobrenadantes foram armazenados a -70°C para posteriores análises. O TNF- α e IL-1 β foram avaliados com enzimas ligadas ao ensaio imunoabsorventes (ELISA), usando kits de R&D Systems, de acordo com as recomendações do fabricante.

3.7 ENSAIO COMETA

O ensaio cometa foi realizado sob condições alcalinas, conforme descrito por Singh et al. (1988), com algumas modificações sugeridas por Tice et al. (2000). As amostras de hipocampo foram dissecadas e imersas em tampão fosfato (PBS) refrigerado. Em seguida elas foram individualmente homogeneizadas com o auxílio de uma seringa, através do movimento de vai e vem, a fim de obter uma suspensão celular. As células obtidas da dissociação de tecidos (aliquotas de 25 μ L) foram embebidas em agarose de baixo ponto de fusão (0.75%, w/v, 95 μ L ou 75 μ L, respectivamente) e a mistura foi adicionada a uma lâmina de microscópio pré-coberta com agarose de ponto de fusão normal (1,5%), cobrindo posteriormente com uma lamínula e levando, então, à geladeira por aproximadamente 5 minutos a 4°C para solidificação. Logo após, as lamínulas foram cuidadosamente retiradas e as lâminas imersas em tampão de lise (2,5M NaCl, 100mM EDTA e 10mM Tris, pH 10,0-10,5, com adição na hora do uso de 1% de Triton X – 100 e 10% de DMSO) a 4°C por um período mínimo de 1 hora e máximo de 2 semanas. Após este período, as lâminas foram incubadas em tampão alcalino (300mM NaOH e 1mM EDTA, pH>13) por 20 minutos para o desenovelamento do DNA e a corrida eletroforética, foi realizada no mesmo tampão nas seguintes condições: a 25v e 300mA por 15 minutos. Todas estas etapas foram realizadas sob luz indireta fraca amarela. Posteriormente as lâminas são neutralizadas com 0,4M Tris (pH 7,5) e, ao final, o DNA foi corado com 10 mg/mL de solução de brometo de etídio (Sigma Brasil, 1239-45-8) para posterior análise em microscópio de fluorescência com aumento de 400x. Foi realizada avaliação de 100 células por indivíduo e por tecido (50 células em cada lâmina duplicada). Tais células foram avaliadas visualmente, sendo classificadas em cinco classes, de acordo com o tamanho da cauda, sendo a classificação para ausência de cauda, até 4 para o comprimento máximo de cauda (Collins et al., 1997). Desta forma, tem-se um Índice de Danos (ID) para cada animal variando de zero ($100 \times 0 = 0$; 100 células observadas completamente sem danos) a 400 ($100 \times 4 = 400$; 100 células observadas com dano máximo). Calcula-se a frequência de danos (FD em %) em cada amostra com base no número de células com cauda versus o número de células sem cauda (Figura 8).

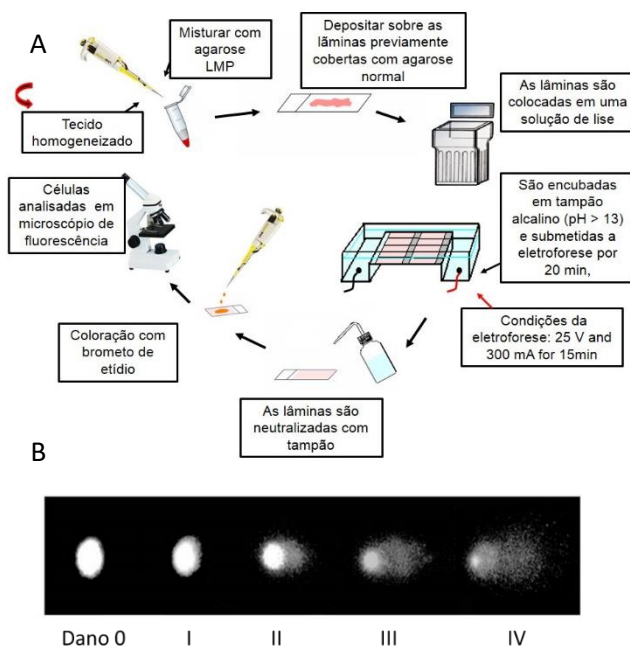


Figura 8. Esquema explicativo do Ensaio Cometa com as etapas experimentais, desde a coleta das células até a análise microscópica (A). Células classificadas de 0 (sem dano) a 4 (maior dano), onde a maior parte do DNA está na “cauda” do cometa (B).

As diretrizes internacionais e recomendações para o ensaio do cometa consideram que o escore visual de 100 cometas é um método de avaliação bem validado. Ele tem uma alta correlação com a análise de imagem por computador (Collins et al., 1997). Foram utilizados controles negativos e positivos para cada teste de eletroforese a fim de assegurar a confiabilidade do procedimento. Todas as lâminas foram codificadas para análise às cegas.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média e desvio padrão da média (média \pm DP). As variáveis foram analisadas quanto à normalidade da distribuição usando o teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade de variância foi avaliada entre os grupos por meio do teste de Levene. Para os ensaios bioquímicos a diferença entre os grupos foi avaliada pela análise de variância de uma via (ANOVA). Quando o valor de F foi significativo, comparações *post hoc* foram feitas pelo teste de Tukey. Os dados para o teste do Labirinto de Barnes foram analisados através da análise de variâncias de medidas repetidas (ANOVA), seguida do teste de Tukey. A significância estatística foi considerada para valores $P < 0,05$. Foi utilizado o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 21.0 como pacote estatístico.

4 RESULTADOS

4.1 EFEITO DE DOIS MODELOS DE TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A MEMÓRIA ESPACIAL DE RATOS VELHOS

Inicialmente, analisou-se o efeito do treinamento aeróbio e de força sobre a memória espacial em ratos de 24 meses de idade através do Labirinto de Barnes (Figura 9). Observou-se que a latência para encontrar a caixa de escape foi diminuída em ambos os protocolos de treinamento no terceiro dia de teste, indicando melhora na cognição após treinamento aeróbio e de força quando comparados com o grupo sedentário (Figura 9 A). Além disso, foi observado que os animais dos grupos aeróbio e força melhoraram a retenção da memória espacial como demonstrado pelo aumento do tempo gasto no quadrante da caixa de escape (Figura 9 B).

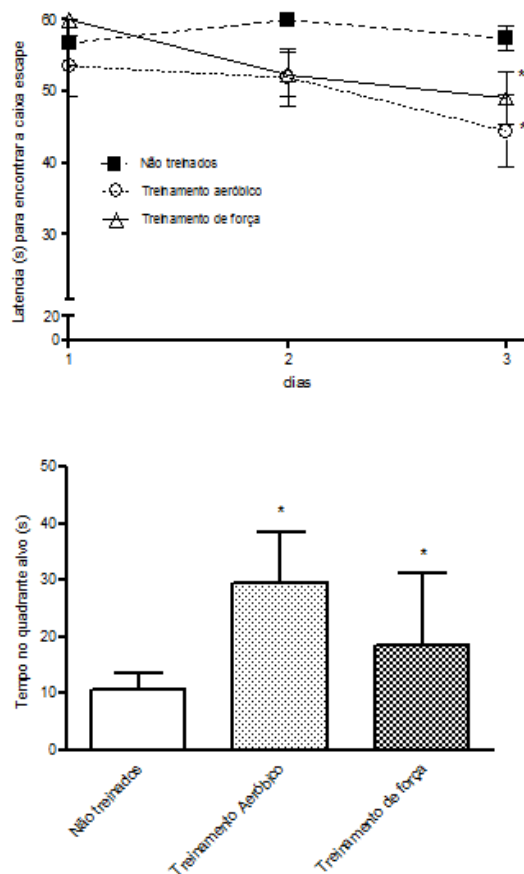


Figura 9. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre a performance cognitiva em ratos velhos avaliados no teste de Barnes Maze. O teste foi realizado 24 h após a última sessão de treinamento. Os valores representam a média \pm desvio padrão ($n = 6$ animais por grupo) das latências para encontrar a caixa alvo (A) e o tempo gasto no quadrante onde estava a caixa alvo (B). * $P < 0,05$ comparado com o controle (repetidas análises, ANOVA, seguido do post hoc de Tukey).

4.2 EFEITO DE DOIS MODELOS DE TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A SINALIZAÇÃO HIPOCAMPAL DE RATOS VELHOS

Para analisar o efeito dos dois modelos de treinamento físico sobre a sinalização do hipocampo, área do cérebro associada à memória espacial, avaliou-se a sinalização glutamatérgica, neurotrófica e mecanismo de reparo.

Inicialmente, avaliou-se os níveis dos marcadores de envelhecimento APP e β amiloide no hipocampo e foi observado que apenas o exercício aeróbico foi capaz de diminuir os níveis de APP (Figura 10 A, $P = 0,0015$), no entanto, os níveis de β amiloide não foram afetados pelos protocolos de exercício (Figura 10 B, $P > 0,05$).

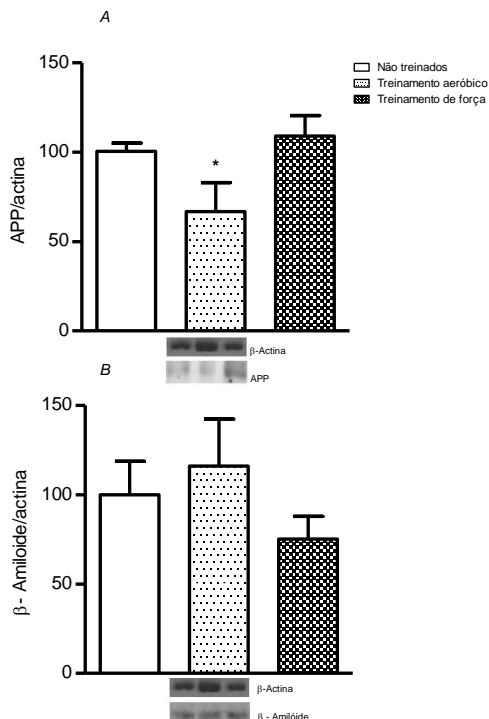


Figura 10. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre os níveis de APP e β amilóide em hipocampo de ratos velhos. Os valores representam a média \pm desvio padrão ($n = 4$ animais por grupo). * $P < 0,05$ comparado com o controle (ANOVA, seguido do *post hoc* de Tukey).

Em relação a sinalização glutamatérgica, os níveis de pNMDA aumentaram igualmente em ambos os protocolos de exercício em comparação com os animais sedentários (Figura 11 A, $P = 0,007$). Além disso, o exercício aeróbico aumentou os níveis de PSD 95 em comparação com os outros grupos (Figura 11 B, $P = 0,016$). Por outro lado, os níveis de CaMK e sinaptofisina não foram afetados pelo exercício em ratos velhos (Figura 11 C e D; $P > 0,05$).

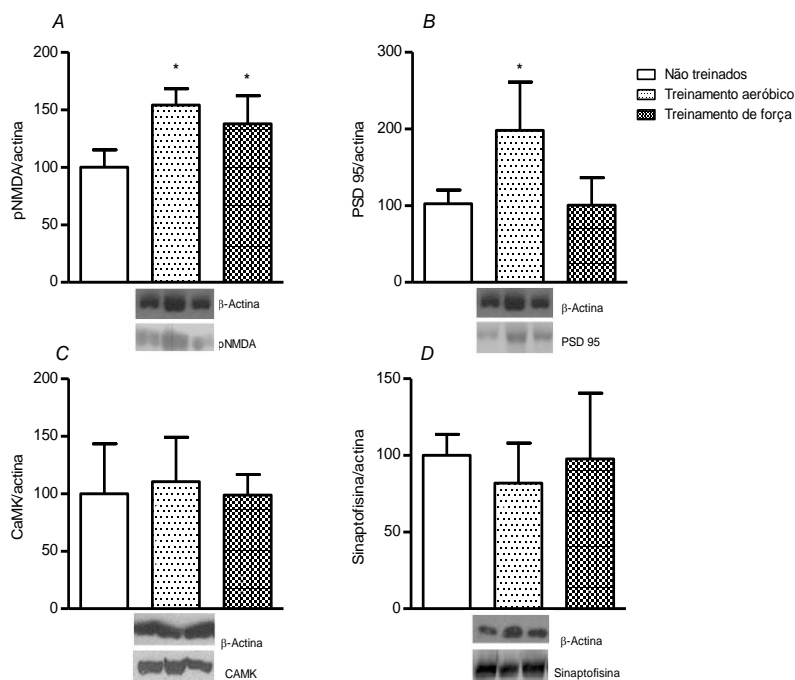


Figura 11. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre proteínas do sistema glutamatérgico em hipocampo de ratos velhos. Os valores representam a média \pm desvio padrão ($n = 4$ animais por grupo). * $P < 0,05$ comparado com o controle (ANOVA, seguido do *post hoc* de Tukey).

Em seguida, foi analisada a modulação da sinalização neurotrófica pelos protocolos de exercício. Os níveis de CREB e BDNF foram aumentados em ambos os protocolos de exercício em comparação com os animais sedentários (Figura 12 A, $P = 0,001$ e B, $P = 0,005$,

respectivamente). No entanto, os níveis de TrkB, um receptor de BDNF, foram reduzidos no grupo exercício aeróbio em comparação com os outros grupos (Figura 12 C, $P = 0,042$). Os níveis de P75^{NTR}, outro receptor neurotrófico, estavam aumentados em ambos os grupos exercitados (Figura 12 D, $P = 0,001$).

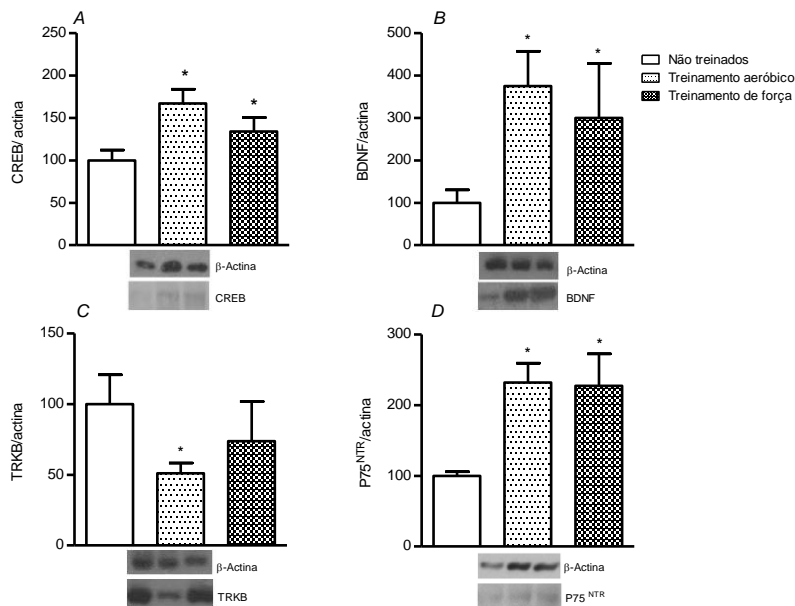


Figura 12. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre a sinalização neurotrófica em hipocampo de ratos velhos. Os valores representam a média \pm desvio padrão ($n = 4$ animais por grupo). * $P < 0,05$ comparado com o controle (ANOVA, seguido do *post hoc* de Tukey).

Analisou-se também os níveis de FoxO3, PKC α , TNF α e IL-1 β após o exercício físico. Os níveis de FoxO3 não foram afetados pelos protocolos de exercício em ratos velhos (Figura 13 A, $P > 0,05$). Por outro lado, os níveis de PKC, TNF α e IL-1 β aumentaram no protocolo força no hipocampo quando comparado com outros grupos (Figura 13 B, $P = 0,001$; C, $P = 0,0001$ e D $P = 0,002$, respectivamente).

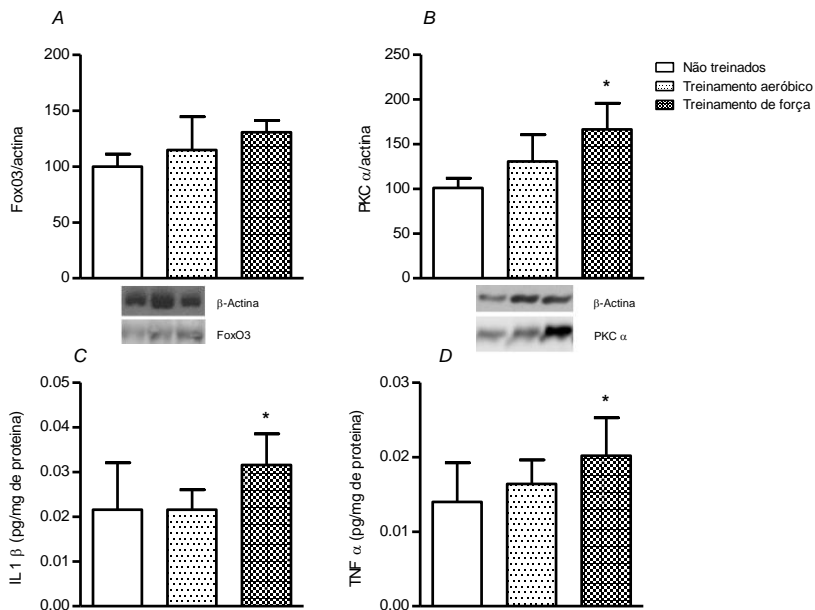


Figura 13. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre os níveis protéicos de FoxO3 e PKC α , por *Western Blotting* e TNF- α e IL-1 β , por Elisa, em hipocampo de ratos velhos. Dados de TNF- α e IL-1 β são expressos como média \pm erro padrão da média ($n = 6$ animais por grupo). Dados de PKC α são expressos como média \pm desvio padrão ($n = 4$ animais por grupo). * $P < 0,05$ comparado com o controle (ANOVA, seguido do *post hoc* de Tukey).

4.3 EFEITO DE DOIS MODELOS DE TREINAMENTO FÍSICO SOBRE NÍVEIS DE DANO NO DNA E NÍVEIS DE APE 1 EM HIPOCAMPO DE RATOS VELHOS

No presente trabalho também foi analisado se o exercício físico poderia diminuir os danos no DNA no hipocampo de ratos velhos. Dessa forma, a análise do hipocampo do grupo exercício aeróbico mostrou diminuição significativa do dano no DNA em relação ao grupo sedentário tanto para o índice (ID) quanto para a frequência de dano (FD) (Figura 14 A, $P = 0,0003$ ID e Figura 14 B, $P = 0,02$ FD). No entanto, resultados similares não foram encontrados no grupo força.

Após, foi observado que os níveis de APE 1, enzima chave do reparo por excisão de base, não foram afetados pelos protocolos de exercício (Figura 14 C, $P > 0,05$).

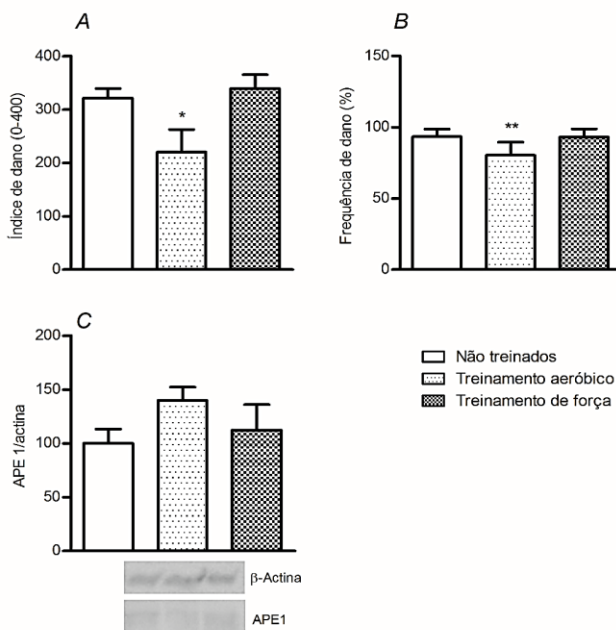


Figura 14. Efeito de dois modelos de treinamento físico sobre o índice (A) e frequência (B) de danos no DNA e níveis proteicos de APE 1 (C) em hipocampo de ratos velhos. Os valores representam a média \pm desvio padrão ($n = 6$ animais por grupo). * $P < 0,05$ e ** $P < 0,01$ comparado com o controle (ANOVA, seguido do *post hoc* de Tukey).

5 DISCUSSÃO

Em virtude do declínio progressivo das capacidades cognitivas e das funções motoras que ocorrem com o envelhecimento, há uma preocupação sobre as estratégias que podem melhorar a qualidade de vida dos idosos (Costa et al., 2008). Não existe ainda tratamento clínico único para as doenças associadas com a idade; assim, pesquisas sobre o envelhecimento estão sendo conduzidas com o objetivo de ampliar o conhecimento dos diferentes fatores (moleculares, celulares ou ambientais) que podem regular o processo de envelhecimento (Dröge e Schipper, 2007; Froy e Miskin, 2007; Rao, 2007; Shammass, 2011). Neste cenário, o exercício físico tem sido considerado como um instrumento, tanto preventivo quanto terapêutico, para vários tipos de doenças associadas com o avanço da idade (Wilmore e Costill, 2001).

Os achados do presente estudo mostraram que os dois modelos de treinamento físico, aeróbio e de força, melhoraram a memória espacial em ratos velhos através de respostas neuroplásticas diferentes. De fato, os benefícios do exercício sobre o declínio funcional do cérebro associado à idade são evidenciados em estudos prévios com roedores, no entanto, a maioria das pesquisas reportam os efeitos da modalidade de exercício aeróbio (Van Praag et al., 2005; Tuon et al., 2012). Já os presentes resultados mostraram que o sistema glutamatérgico é modulado pelo treinamento aeróbio, mas que o protocolo de força também promoveu alterações nos níveis de PKC e parâmetros inflamatórios. Neste cenário, os resultados são inovadores uma vez que os efeitos do exercício de força sobre o cérebro permanecem desconhecidos.

Pesquisas mostram que os déficits na plasticidade sináptica e, conseqüentemente, na memória espacial são relacionados ao hipocampo durante o envelhecimento (Moore et al., 1993; Burger, 2010). Dessa forma, os achados obtidos no teste comportamental para a avaliação da memória espacial reforçam e estendem a noção de que ambas as modalidades de exercício representam viáveis estratégias comportamentais para melhorar a função cognitiva em indivíduos idosos. Em paralelo com os benefícios cognitivos, foi observado aumento da plasticidade sináptica no hipocampo em ambos os protocolos de exercício com algumas diferenças entre eles nos marcadores avaliados (Figura 15).

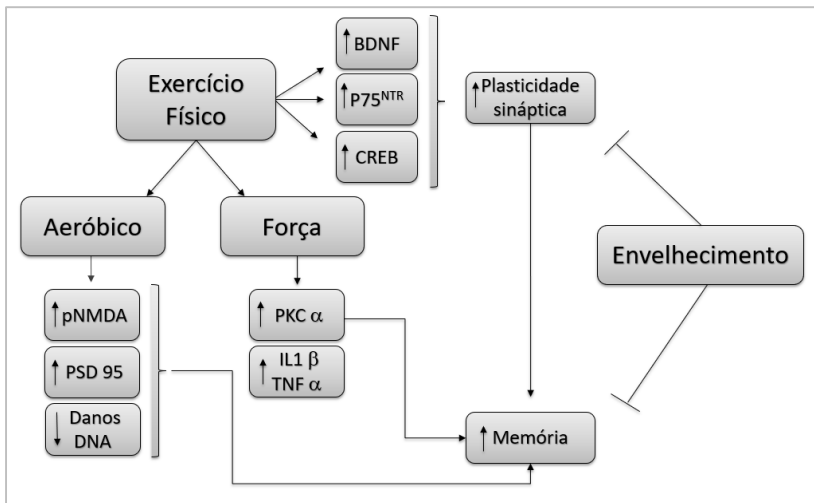


Figura 15. Esquema explicativo do efeito de dois modelos de treinamento físico sobre parâmetros neuroquímicos em hipocampo de ratos velhos.

Um crescente corpo de evidências tem demonstrado acúmulo de placas amilóides no cérebro envelhecido (Ballard et al., 2011; Bateman et al., 2012). No entanto, pouca atenção tem sido dada a proteína precursora de amiloide (APP) durante o processo de envelhecimento saudável (Bertoldi et al., 2016). Esta proteína está envolvida na patologia da doença de Alzheimer, doença de alta prevalência relacionada com o avanço da idade (Ballard et al., 2011). A molécula APP pode sofrer proteólise por 2 rotas, uma não-amiloidogênica e outra amiloidogênica e o processo de envelhecimento normal poderia estar relacionado ao desequilíbrio dessas vias (Bertoldi et al., 2016). No presente estudo, o exercício aeróbio reduziu os níveis de APP, no entanto, os níveis de β -amilóide não foram afetados pelo exercício. O peptídeo β -amilóide é originado a partir de APP e o seu acúmulo também tem sido implicado na fisiopatologia da doença de Alzheimer (Bateman et al., 2012; Zhao et al., 2015). Em concordância com os presentes resultados, Zhao et al. (2015) observaram aumento da plasticidade sináptica, no entanto, os níveis de β -amilóide também não se alteraram com o exercício. Em contraste, outros estudos mostram que o exercício físico pode reduzir as placas de β -amilóide, sendo efetivo na prevenção da doença (Ke et al., 2011; Stranahan et al., 2012).

O exercício aeróbio melhorou a memória espacial possivelmente pelo aumento da sinalização glutamatérgica, uma vez que

a ativação dos receptores NMDA são cruciais para uma rápida regulação da plasticidade sináptica incluindo a potenciação e depressão de longa duração, importantes para memória e aprendizagem (Malenka e Bear, 2004; Kumar, 2015). A diminuição dos níveis de NMDA no hipocampo durante o envelhecimento tem sido observada em estudos, assim como alterações na configuração e função das subunidades desse receptor (Zhao et al., 2009; Kumar e Foster, 2013). Os fatores que podem estar contribuindo para esta hipofunção do NMDA incluem alteração da expressão das subunidades, estresse oxidativo, interação com proteínas e células gliais e interação com outros receptores (Kumar e Foster, 2013). Assim, devido a importância crítica dos receptores NMDA na transmissão sináptica e na memória, fatores que possam realizar uma regulação positiva seletiva das subunidades do receptor NMDA nos neurônios, como o exercício físico, podem proporcionar uma via para o tratamento de déficits cognitivos associados à idade.

Alterações sinápticas relacionadas à idade que afetam a função têm sido mais documentadas nos níveis estruturais e neuroquímicos (Morrison e Baxter, 2012). É provável que essas mudanças estruturais e neuroquímicas sejam acompanhadas pela reprogramação da maquinaria molecular da sinapse, e, uma ideia que é consistente se refere à redução dos níveis de PSDs no hipocampo (Berchtold et al., 2013). Os nossos resultados mostraram aumento de PSD 95, proteína que regula a plasticidade e transmissão sináptica, podendo então estar associada com a melhora da memória hipocampal observada no presente estudo (El-Husseini et al., 2000; Beique e Andrade 2003; Kim e Leem, 2016). Shih et al. (2013) também observaram aumento dos níveis de PSD 95 em um estudo com ratos após treinamento em esteira, sugerindo uma melhora na plasticidade sináptica e na performance da memória espacial. Por outro lado, Fernandes et al. (2016) observaram aumento na expressão de PSD 95 após treinamento de força (com protocolo de exercício semelhante), no entanto, eles utilizaram animais adultos e não velhos. Estes autores sugerem que o exercício nessa modalidade também ativa a maquinaria pós-sináptica necessária para a LTP e consolidação de memória. Apesar de usarem protocolo de exercício semelhante ao presente estudo, estes pesquisadores utilizaram animais adultos e não velhos.

A sinaptofisina e CaMK, outras proteínas associadas ao exercício que induzem neuroplasticidade (Hescham et al., 2009), não foram afetadas pelos protocolos de exercício no presente trabalho, provavelmente porque foram utilizados animais idosos que apresentam a

síntese de proteínas prejudicada no cérebro (Glorioso e Sibille, 2011). Por outro lado, um estudo com animais jovens, mostrou aumento dos níveis da sinaptofisina e CaMK no hipocampo após o exercício de resistência (Fernandes et al., 2016). A sinaptofisina e CaMK são proteínas amplamente utilizadas como marcadores de sinaptogênese e apresentam a função de mediar a indução e manutenção da plasticidade sináptica subjacente a aprendizagem e memória (Antonova et al., 2001).

Os níveis de PSD 95 são possivelmente regulados pelo BDNF, uma vez que vários estudos reportam o papel dominante dessa neurotrofina no aumento da memória e neurogênese hipocampal (Gomez-Pinilla et al., 2008, 2011; Marlatt et al., 2012). Confirmando esta hipótese, um estudo observou que o bloqueio da sinalização do BDNF prejudicou a expressão de PSD 95 no hipocampo e diminuiu o crescimento dendrítico (Charych et al., 2006). De fato, os resultados do nosso estudo mostraram aumento dos níveis de BDNF depois de ambas as modalidades de exercício, assim como previamente reportado por outros autores (Mattson et al. 2004; Li et al, 2008; Marais et al., 2009; Aguiar et al., 2011; Yang et al., 2014).

Os efeitos neuroprotetores do BDNF são mediados pela sua alta afinidade com o receptor TrkB, o qual ativa diferentes vias de sinalização (Yang et al., 2014). Os resultados mostraram redução dos níveis de TrkB após o exercício aeróbico. No entanto, os níveis de P75^{NTR}, outro receptor de neurotrofina, aumentaram após as duas modalidades de exercício, sugerindo um possível mecanismo compensatório para modular a ação das neurotrofinas no hipocampo. Interessantemente, Costa et al. (2012) observaram que o aumento dos níveis de BDNF induzidos pelo exercício (com treinamento de esteira de intensidade moderada) podem estar contribuindo para a baixa regulação dos receptores TrkB, resultando na disfunção deste receptor ou nos seus componentes da via de sinalização.

A relevância funcional do receptor p75^{NTR} é complexa e alguns estudos indicam um possível envolvimento na via apoptótica pela ligação com pro-BDNF, enquanto outros apontam efeitos pró-sobrevivência pela sinalização vinculada aos receptores Trk (Hempstead, 2002; Meeker e Williams, 2015). Teng e colaboradores (2005) sugerem que a presença ou ausência de sortilina em uma célula, uma proteína transmembranar do tipo I, determina as funções de p75^{NTR} como um receptor de morte celular ou de sobrevivência. Recentemente tem sido mostrado que p75^{NTR} aumenta a sobrevivência de neurônios lesionados, desencadeia apoptose eliminando células danificadas além

de proporcionar um ambiente favorável para o crescimento e controlar a inflamação (Ozbas-Gerceker et al., 2004; Wei et al., 2007; Meeker e Williams, 2015). Além disso, estudos tem observado que no hipocampo, P75^{NTR} pode estar associado com PSDs regulando a depressão de longa duração (Woo et al., 2005; Sandoval et al., 2007).

O aumento dos níveis de BDNF pode se dar através de respostas adaptativas induzidas pelo exercício físico, que diminui a incidência de doenças associadas ao estresse oxidativo. De fato, os níveis de BDNF são altamente influenciados por mudança no estado cerebral redox (Siamilis et al., 2009). Um desequilíbrio na produção ou na remoção de ERO pode causar estresse oxidativo e reduzir os níveis de BDNF. No entanto, os mecanismos pelos quais o estresse oxidativo reduz estas proteínas são complexos, e vários fatores podem estar envolvidos como a diminuição da atividade de CREB, depleção de energia e, em seguida, o comprometimento da função de NMDA (Wu et al., 2004). Além disso, é possível que a redução do estresse oxidativo, restaure o estado redox e isso pode resultar na manutenção da função dos receptores NMDA (Lu et al., 2001; Bustos et al., 2009), aumentando os níveis de BDNF (Fukuchi et al., 2010). Interessantemente, descobertas recentes sugerem que o BDNF tem uma função antioxidante. Utilizando culturas corticais primárias de ratos, o tratamento com BDNF resultou em uma produção atenuada de ERO. Este efeito antioxidante é conseguido pela ativação da sestrina 2, gene que está implicado na defesa celular contra o estresse oxidativo (Wu et al., 2016).

Os presentes achados mostraram aumento dos níveis de CREB após as duas modalidades de exercício físico. Outros estudos reportam aumento de CREB fosforilado após o exercício (Aguiar et al., 2011; Yang et al., 2014). CREB é um ponto de convergência de muitas vias de sinalização, incluindo a transcrição de BDNF (Aguiar et al., 2011; Kim e leem, 2016). CREB está associado, por exemplo, com aumento da atividade sináptica que regula a sobrevivência neuronal, é precursor de proliferação, atua no crescimento de neuritos e diferenciação neuronal, como também está associado com o aprendizado e memória (Benito e Barco, 2010). Pesquisas revelaram um novo papel de CREB na plasticidade neural: o controle da excitabilidade intrínseca (isto é, da propensão do neurônio em disparar potenciais de ação em resposta a sinais) (Disterhoft e Oh, 2006; Mozzachiodi e Byrne, 2010). Estas novas evidências experimentais indicam novos mecanismos que CREB pode participar na consolidação de memória, e fornece uma nova visão sobre

os fundamentos moleculares da plasticidade intrínseca, uma família de processos que, semelhante à plasticidade sináptica, é considerada por ter um papel crucial no aprendizado e memória (Benito e Barco, 2010).

Além disso, CREB parece mediar sinais que são importantes para lidar com o estresse oxidativo, sugerindo que a sua ativação dependente do exercício físico é uma ativação associada a ERO (Radak et al., 2016). Assim, os presentes resultados sugerem que o exercício induz aumento de BDNF via ativação de CREB, fornecendo mais evidências do aumento da neuroplasticidade do hipocampo induzida pelo exercício físico em ratos idosos.

No presente estudo não foram observadas diferenças significativas nos níveis de FoxO3, molécula amplamente expressa no cérebro e que pode ser ativada através da via de sinalização BDNF-PI3K-AKT (Park et al., 2011). Em discordância com os nossos resultados, Vechetti-Junior et al. (2015) observaram inibição da via FoxO em músculo de ratos velhos após treinamento aeróbio, sugerindo melhora na regeneração celular. Por outro lado, Renault e colaboradores (2009) observaram que o efeito da redução de FoxO3 no cérebro é diferente, suprimindo o sistema de defesa antioxidante e aumentando os níveis de ERO. A família dos fatores de transcrição FoxO desempenham papéis cruciais na proliferação celular, metabolismo energético e resistência ao estresse, estando envolvidos também no reparo do DNA, desintoxicação de ERO, apoptose e a autofagia por regulação positiva de programas específicos de expressão gênica (Zhao et al., 2004). Dessa forma, estudos têm relatado uma associação da FoxO3 com o envelhecimento e doenças associadas com o avanço da idade (Park et al., 2011). FoxO3 está associado, por exemplo, à sobrevivência de neurônios no hipocampo contra vários insultos (Dick e Bading, 2010) e pode ser regulada por fatores de crescimento como o BDNF (Zhu et al., 2004).

A modalidade de exercício de força melhorou a memória espacial, no entanto, as respostas neuroplásticas foram diferentes das observadas no exercício aeróbio, aumentando PKC α e fatores pró inflamatórios como TNF- α e IL-1 β . O aumento de NMDA observado após o exercício de força se deve possivelmente pela ativação de PKC (Lan et al., 2001). Estes resultados sugerem que as respostas observadas no sistema glutamatérgico podem ser alteradas de acordo com o tipo, intensidade, duração e volume do exercício realizado. De fato, os níveis de PKC α foram aumentados pelo protocolo de força no hipocampo quando comparado com os outros grupos. PKC regula a eficiência

neuronal em diferentes níveis, incluindo liberação de neurotransmissores, função de receptores e expressão gênica (Kleschevnikov e Routtenberg, 2001). Estudos mostram que a redução na expressão de PKC α e ϵ no córtex frontal e hipocampo, relacionadas à idade, tem sido relacionada ao prejuízo na memória espacial (Perovic et al., 2013). Os resultados sugerem então que o protocolo de força melhorou a memória espacial possivelmente pela ativação de PKC α que está relacionada com vias de sinalização cruciais para formação de muitos tipos de memória (Bonini et al., 2005). Por exemplo, Guo e Fang (2012) mostraram que PKC é capaz de modular CREB. Estes autores utilizaram diferentes concentrações de um inibidor de PKC e observaram que a fosforilação de CREB é significativamente suprimida. Por outro lado, PKC é uma proteína particularmente importante como mediadora de inflamação e imunidade (Tan e Parker, 2003).

Interessantemente, contrariando resultados anteriores de outros grupos (Chennaoui et al., 2008; Gomes et al., 2013), no nosso estudo, as citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e TNF- α aumentaram após o treinamento de força. Este último pode ser ativado pela sinalização de PKC que ativa o fator nuclear Kappa B (NF- κ B), levando à expressão de TNF (Garcia-Bonilla et al., 2014). Dados recentes indicam que TNF- α é expresso em cérebro normal e também desempenha um papel importante no desenvolvimento neuronal e na neuroplasticidade (Tonelli e Postolache, 2005; Rushaniya et al., 2009). Beattie et al. (2002) sugerem que o TNF- α está envolvido em alterações sinápticas, onde baixas concentrações extracelulares de glutamato estimulam a liberação de citocinas pelos astrócitos e promovem a expressão superficial de receptores pós-sinápticos de glutamato. Além disso, esta citocina regula positivamente a função pré-sináptica, por aumentar a liberação vesicular de glutamato dos astrócitos, levando à ativação dos receptores glutamatérgicos pré-sinápticos NMDA (Santello e Volterra, 2012). Assim, tem sido observado que o exercício físico pode, em decorrência da intensidade, duração, frequência e do tipo (estático e/ou dinâmico) de atividade, alterar diversas funções do sistema imunológico (Pedersen e Hoffman-Goetz, 2000). No entanto, mais estudos são necessários para esclarecer os mecanismos induzidos pelo aumento dessas moléculas e também se este aumento pode estar associado com a melhora da memória observada no presente estudo.

Para confirmar se ambas as modalidades de exercício são neuroprotetoras no envelhecimento, foi avaliado os níveis de danos no DNA no hipocampo de ratos velhos através do ensaio cometa. Foi

observado em estudos anteriores de nosso laboratório maiores danos no DNA em hipocampo de animais velhos quando comparados com animais jovens (Leffa et al., 2014; Damiani et al., 2016). No presente trabalho, o exercício aeróbio foi capaz de diminuir os danos no DNA em animais velhos, em concordância com estudos anteriores (Radak et al., 2008; Yang et al., 2014; Soares et al., 2015). Essa diminuição possivelmente está relacionada com o aumento da eficiência do sistema antioxidante, causado pelo exercício físico. Em relação ao exercício de força, não foram observados resultados similares, sugerindo que a sinalização modulada por esta modalidade de exercício não é capaz de diminuir os danos no DNA. Outros fatores como a resposta inflamatória (observada pelo aumento de IL-1 β e TNF- α) podem estar influenciando no reparo de DNA, no entanto, mais estudos são necessários para esclarecer estes mecanismos.

Estudos observaram que o BDNF poderia aumentar o reparo do DNA (Marais et al., 2009; Aguiar et al., 2011; Yang et al., 2014) possivelmente por um mecanismo envolvendo a expressão de APE1 mediada pela transcrição de CREB (Yang et al., 2014). APE1 desempenha múltiplas atividades bioquímicas que conferem inúmeros papéis biológicos (Li et al., 2014). Além do reparo do DNA, APE1 é um ativador redutivo de fatores de transcrição tais como NF- κ B e p53. Dessa forma, APE1 poderia ser um importante mediador da inflamação (Tell et al., 2009). De fato, os níveis de CREB aumentaram após ambas as modalidades de exercício, no entanto, não foram observadas alterações significativas nos níveis de APE1, apenas uma tendência de aumento dos níveis de APE1 após o exercício aeróbio.

As deficiências no reparo do DNA com o envelhecimento, estão correlacionadas com o declínio cognitivo e doenças neurodegenerativas que são mais proeminentes na população idosa (Jeppesen et al., 2011). Neste contexto, estudos mostraram que o exercício físico poderia aumentar a atividade das enzimas envolvidas no reparo por excisão de bases em músculo esquelético em ratos velhos (Radak et al., 2002, 2008), no entanto, poucos pesquisadores têm investigado o reparo do DNA no cérebro como consequência do treinamento físico. Assim, a necessidade do entendimento dos mecanismos pelos quais o exercício físico exerce seus efeitos benéficos sobre processos cognitivos, tanto em condições fisiológicas, como em patológicas, torna-se cada vez mais importante uma vez que na atualidade o exercício físico regular se encontra indissociável dos conceitos de saúde e de qualidade de vida (Scliar, 2007).

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, o presente estudo mostrou que ambos os modelos de treinamento físico melhoraram a memória espacial em ratos velhos através de mecanismos moleculares distintos de neuroplasticidade. A sinalização neurotrófica (CREB, BDNF, e P75^{NTR}) aumentou depois de ambos os protocolos de exercício. Dessa forma, o presente estudo sugere que o treinamento aeróbio melhorou a memória espacial através da sinalização neurotrófica que regula as proteínas do sistema glutamatérgico (NMDA e PSD-95), enquanto o treinamento de força aumentou os níveis de PKC α , TNF- α , e IL-1 β . A ativação de PKC α após o exercício de força está relacionada com vias de sinalização cruciais para formação de muitos tipos de memória. Estes resultados, tomados em conjunto, mostram que os efeitos do exercício físico sobre a plasticidade cerebral e memória espacial ocorrem dependente do tipo de exercício.

REFERÊNCIAS

- Aguiar AS, Jr. Castro AA, Moreira EL, Glaser V, Santos AR, Tasca CI, Latini A, Prediger RD. Short bouts of mild-intensity physical exercise improve spatial learning and memory in aging rats: involvement of hippocampal plasticity via AKT, CREB and BDNF signaling. *Mech Ageing Dev.* 2011; 132: 560–567.
- Aguiló A, Tauler P, Fuentespina E, Tur JA, Córdova A, Pons A. Antioxidant response to oxidative stress induced by intense exercise. *Physiol Behav.* 2005; 84:1–7.
- Akbari M, Krokan HE. Cytotoxicity and mutagenicity of endogenous DNA base lesions as potential cause of human aging. *Mech Dev Aging.* 2008; 129 (7-8): 353-65.
- Anderton BH. Ageing of the brain. *Mechanisms of Ageing and development*, 2002; 123: 811 – 817.
- Antonova I, Arancio O, Trillat AC, Wang HG, Zablow L, Udo H, Kandel ER, Hawkins RD. Rapid increase in clusters of presynaptic proteins at onset of long-lasting potentiation. *Science.* 2001; 294(5546):1547-50.
- Arcoverde C, Deslandes A, Rangel A, Rangel A, Pavão R, Nigri F, Engelhardt E, Laks J. Role of physical activity on the maintenance of cognition and activities of daily living in elderly with Alzheimer's disease. *Arq Neuropsiquiatr.* 2008; 66:323-7.
- Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. *Lancet.* 2011; 377(9770):1019-31.
- Barnes CA. Memory deficits associated with senescence: A neurophysiological and behavioral study in the rat. *J. Comp Physiol Psychol.* 1979; 93: 74–104.
- Bassi D, Mendes RG, Arakelian VM, Caruso FC, Cabiddu R, Júnior JC, Arena R, Borghi-Silva A. Potential Effects on Cardiorespiratory and Metabolic Status After a Concurrent Strength and Endurance Training

Program in Diabetes Patients - a Randomized Controlled Trial. *Sports Med Open*. 2016;2(1):31.

Bateman RJ, Xiong C, Benzinger TLS, Fagan AM, Goate A, Fox NC, Marcus DS, Cairns NJ, Xie X, Blazey TM, Holtzman DM, Santacruz A, Buckles V, Oliver A, Moulder K, Aisen PS, Ghetti B, Klunk WE, McDade E, Martins RN, Masters CL, Mayeux R, Ringman JM, Rossor MN, Schofield PR, Sperling RA, Salloway S, Morris JC. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2012; 367:795-804.

Beattie EC, Stellwagen D, Morishita W, Bresnahan JC, Ha BK, Von Zastrow M, Beattie MS, Malenka RC. Control of synaptic strength by glial TNF alpha. *Science*. 2002; 295(5563): 2282-5.

Bechara RG, Kelly AM. Exercise improves object recognition memory and induces BDNF expression and cell proliferation in cognitively enriched rats. *Behav Brain Res*. 2013; 245: 96–100.

Beique JC, Andrade R. PSD-95 regulates synaptic transmission and plasticity in rat cerebral cortex. *J. Physiol*. 2003; 546: 859–867.

Benito E, Barco A. CREB's control of intrinsic and synaptic plasticity: implications for CREB-dependent memory models. *Trends Neurosci*. 2010; 33: 230–240.

Berchtold NC, Kesslak JP, Cotman CW. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor gene regulation by exercise and the medial septum. *J Neurosci Res*. 2002 Jun 1;68(5):511-21.

Berchtold NC, Coleman PD, Cribbs DH, Rogers J, Gillen DL, Cotman CW. Synaptic genes are extensively downregulated across multiple brain regions in normal human aging and Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*. 2013;34(6):1653-1661.

Bernhardi MR. Envejecimiento: cambios bioquímicos y funcionales del sistema nervioso central. *Revista Chilena de Neuropsiquiatria*. 2005; 447(31): 545-550.

Berridge MJ, Irvine RF. Inositol phosphates and cell signalling. *Nature*. 1989; 341(6239):197-205.

Bertoldi K, Cechinel LR, Schallenger B, Meireles L, Basso C, Lovatel GA, Bernardi L, Lamers ML, Siqueira IR. Aging process alters hippocampal and cortical secretase activities of Wistar rats. *Behav Brain Res*. 2016; 317:374-381.

Bishop NA, Lu T, Yankner BA. Neural mechanisms of ageing and cognitive decline. *Nature*. 2010; 464:529–535 .

Blackburn EH, Greider CW, Szostak JW. Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Nat Med*. 2006; 12: 1133–1138.

Bonini JS, Cammarota M, Kerr DS, Bevilaqua LR, Izquierdo I. Inhibition of PKC in basolateral amygdala and posterior parietal cortex impairs consolidation of inhibitory avoidance memory. *Pharmacol Biochem Behav*. 2005; 80(1): 63–67.

Bonini JS, Da Silva WC, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M. On the participation of hippocampal PKC in acquisition, consolidation and reconsolidation of spatial memory. *Neurosci*. 2007; 147(1):37-45.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding,” *Analytical Biochemistry*. 1976; 72: 248–254.

Burger C. Region-Specific Genetic Alterations in the Aging Hippocampus: Implications For Cognitive Aging. *Front Aging Neurosci*. 2010; 2: 140.

Burlinson B, Tice RR, Speit G, Agurell E, Brendler-Schwaab SY, Collins AR, Escobar P, Honma M, Kumaravel TS, Nakajima M, Sasaki YF, Thybaud V, Uno Y, Vasquez M, Hartmann A. Fourth International Workgroup on Genotoxicity testing: Results of the in vivo Comet assay workgroup. *Mutation Research*. 2007; 627 : 31–35.

Bustos G, Abarca J, Bustos V, Riquelme E, Noriega V, Moya C, Campusano J. NMDA receptors mediate an early upregulation of brain-derived neurotrophic factor expression in substantia nigra in a rat model of presymptomatic Parkinson's disease. *J Neurosci Res*. 2009; 87:2308-18.

Camarota M, Bevilacqua Lr, Medina JH, Izquierdo I. ERK1/2 and CaMKII-mediated events in memory formation: is 5HT regulation involved? *Behav Brain Res*. 2007; 195(1):120-128.

Cançado FAX, Horta ML. Envelhecimento Cerebral. In: Freitas EV e colaboradores. *Tratado de Geriatria e Gerontologia*. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara-Kogan, 2006.

Chao VM. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signaling pathways. *Nat Rev Neurosci*. 2003; 4:299-309.

Charych EI, Akum BF, Goldberg JS, Jornsten RJ, Rongo C, Zheng JQ, Firestein BL. Activity-independent regulation of dendrite patterning by postsynaptic density protein PSD-95. *J Neurosci*. 2006; 26: 10164–10176.

Chennaoui M, Drogou C, Gomez-Merino D Effects of physical training on IL-1beta, IL-6 and IL-1ra concentrations in various brain areas of the rat. *Eur Cytokine Netw*. 2008; 19:8–14.

Collins A, Dusinska M, Franklin M, Somorovska M, Petrovska H, Duthie S, Fillion L, Panayiotidis M, Raslová K, Vaughan N. Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation, and applications. *Environ Mol Mutagen*. 1997; 30(2):139-46.

Costa MS, Ardais AP, Fioreze GT, Mioranzzza S, Botton PH, Souza DO, Rocha JB, Porciúncula LO: The impact of the frequency of moderate exercise on memory and brain-derived neurotrophic factor signaling in young adult and middle-aged rats. *Neuroscience*. 2012; 11:100-109.

Costa MS, Botton P, Mioranzzza HS, Souza DO, Porciúncula LO. Caffeine prevents age-associated recognition memory decline and 54 changes brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor (trkb) content in mice. *Neuroscience*. 2008; 153(4):1071-78.

Creer DJ, Romberg C, Saksida LM, Van Praag H, Bussey TJ. Running enhances spatial pattern separation in mice. *Proc. Natl Acad Sci USA*. 2010; 107: 2367–2372.

Damiani AP, Garcez ML, Abreu LL, Tavares TH, Boeck CR, Andrade VM. A reduction in DNA damage in neural tissue and peripheral blood of old mice treated with caffeine. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 2016.

Dianov GL, Sleeth KM, Dianova II, Allinson SL. Repair of a basic sites in DNA. *Mutation Research*. 2003; 531: 157–163.

Dibble LE, Hale TF, Marcus RL, Gerber JP, LaStayo PC; High intensity eccentric resistance training decreases bradykinesia and improves quality of Life in persons with Parkinson's disease: a preliminary study. *Parkinsonism Relat Disord*. 2009; 15:752-7.

Dick O, Bading H. Synaptic activity and nuclear calcium signaling protect hippocampal neurons from death signal-associated nuclear translocation of FoxO3a induced by extrasynaptic N-methyl-D-aspartate receptors. *J Biol Chem*. 2010; 285: 19354–19361.

Disterhoft JF, Oh MM. Learning, aging and intrinsic neuronal plasticity. *Trends Neurosci*. 2006; 29: 587–599.

Downs JA, Nussenzweig MC, Nussenzweig A. Chromatin dynamics and the preservation of genetic information. *Nature*. 2007; 447:951-958.

Drag LL, Linas A, Bieliauskas MS. Contemporary Review 2009: Cognitive Aging. *Geriatr Psychiatry Neurol OnlineFirst*, 2010.

Driscoll I, Robert J. The Aging Hippocampus: Navigating Between Rat and Human Experiments Sutherland Reviews in the Neurosciences. 2005; 16: 87-121.

Dröge W, Schipper HM. Oxidative stress and aberrant signaling in aging and cognitive decline. *Aging Cell*. 2007; 6:361–370

Du J, Gould TD, Manji HK. Neurotrophic signaling in mood disorders. In: Gutkind JS, editor. Signal transduction and human disease. John Wiley & Sons. 2003; 411-446.

Duzel E, Van Praag H, Sendtner M. Can physical exercise in old age improve memory and hippocampal function? *Brain*. 2016; 139(3): 662–673.

El-Husseini AE, El-Husseini E, Schnell DM, Chetkovich RA, Nicoll DS. Bredt PSD-95 involvement in maturation of excitatory synapses *Science*. 2000; 290: 1364–1368.

Ergin V, Hariry RE, Karasu C. Carbonyl stress in aging process: role of vitamins and phytochemicals as redox regulators. *Aging Dis*. 2013; 4 (5): 276-94.

Fernandes J, Soares JC, do Amaral Baliego LG, Arida RM. A single bout of resistance exercise improves memory consolidation and increases the expression of synaptic proteins in the hippocampus. *Hippocampus*. 2016; 26(8):1096-103.

Fortini P, Pascucci B, Parlanti E, D'Errico M, Simonelli V, Dogliotti E. The base excision repair: mechanisms and its relevance for cancer susceptibility. *Biochimie*. 2003; 85(11):1053-71.

Foster TC Dissecting the age-related decline on spatial learning and memory tasks in rodent models: N-methyl-D-aspartate receptors and voltage-dependent Ca²⁺ channels in senescent synaptic plasticity. *Prog Neurobiol*. 2012; 96(3): 283-303.

Froy O, Miskin R. The interrelations among feeding, circadian rhythms and ageing. *Prog Neurobiol*. 2007; 82(3):142-50.

Fukuchi M, Fujii H, Takachi H, Ichinose H, Kuwana Y, Tabuchi A, Tsuda M: Activation of tyrosine hydroxylase (TH) gene transcription induced by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its selective inhibition through Ca (2+) signals evoked via the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor. *Brain Res*. 2010; 1366:18–26.

Garcia-Bonilla L, Benakis C, Moore J, Iadecola C, Anrather J. Immune mechanisms in cerebral ischemic tolerance. *Frontiers in Neuroscience*. 2014; 8:44.

Glorioso C, Sibille E. Between destiny and disease: genetics and molecular pathways of human central nervous system aging. *Prog Neurobiol*. 2009; 93: 165–181.

Gobbo OL, O'Mara SM. Exercise, but not environmental enrichment, improves learning after kainic acid-induced hippocampal neurodegeneration in association with an increase in brain-derived neurotrophic factor. *Behav Brain Res*. 2005; 159(1): 21–26.

Gomes da Silva S, Simões PSR, Mortara RA, Scorza FA, Cavalheiro EA, da Graça Naffah-Mazzacoratti M, Arida RM. Exercise-induced hippocampal anti-inflammatory response in aged rats. *Journal of Neuroinflammation*. 2013; 10: 10–61.

Gomez-Pinilla F, Vaynman S, Ying Z. Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. *Eur J Neurosci*. 2008; 28(11):2278–2287.

Gómez-Pinilla, F, Ying Z, Roy RR, Molteni R, Edgerton VR. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. *J. Neurophysiol*. 2002; 88: 2187–2195.

Guimarães RM, Cunha UGV. Sinais e sintomas em geriatria. 2.ed., São Paulo: Atheneu: 2004.

Guo Y, Feng P. OX2R activation induces PKC-mediated ERK and CREB phosphorylation. *Exp Cell Res*. 2012; 318 (16): 2004–2013.

Haider S, Saleem S, Perveen T, Tabassum S, Batool Z, Sadir S, Liaquat L, Madiha S. Age-related learning and memory deficits in rats: role of altered brain neurotransmitters, acetylcholinesterase activity and changes in antioxidant defense system. *Age (Dordr)*. 2014; 36(3):9653.

Hanson ED, Srivatsan SR, Agrawal S, et al. Does strength training improve function: strength, power, and body composition relationships. *J Strength Cond Res*. 2009; 23: 2627-37

Helene AF, Xavier GF. Working memory and acquisition of implicit knowledge by imagery training, without actual task performance. *Neuroscience*. 2006; 28;139(1):401-13.

Hempstead BL. The many faces of p75NTR *Curr Opin Neurobiol*. 2002; 12:260–267.

Hescham S, Grace L, Kellaway LA, Bugarith K, Russell VA. Effect of exercise on synaptophysin and calcium/calmodulin-dependent protein kinase levels in prefrontal cortex and hippocampus of a rat model of developmental stress. *Metabolic brain disease*. 2009; 24(4):701–709.

Hoeijmakers JH. DNA damage, aging, and cancer. *N Engl J Med*. 2009; 361: 1475–1485.

Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms are critical for preventing cancer as well as other aging-associated diseases. *Mech Ageing Dev*. 2007; 128(7-8): 460-2.

Hongpaisan J, Xu C, Sen A, Nelson TJ, Alkon DL. PKC activation during training restores mushroom spine synapses and memory in the aged rat. *Neurobiol Dis*. 2013; 55:44–62.

Hornberger TA Jr, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol*. 2004; 29(1):16-31.

IBGE, Diretoria de Pesquisas. Coordenação de População e Indicadores Sociais. Gerência de Estudos e Análises de Dinâmicas Demográficas. *Projeção da População do Brasil por sexo e idade: 1980-2050 - Revisão 2012*.

Imam SZ, Karahalil B, Hogue BA, Souza-Pinto NC, Bohr VA. Mitochondrial and nuclear DNA-repair capacity of various brain regions in mouse is altered in an age-dependent manner. *Neurobiol Aging*. 2006; 27(8):1129-36.

Izquierdo I, Izquierdo LA, Barros DM, Mello e Souza T, de Souza MN, Quevedo J, Rodrigues C, Sant’Anna MK, Madruga M, Medina JH. Differential involvement of cortical receptor mechanisms in working,

short-term and long-term memory. *Behavior Pharmacology*. 1998; 9(5-6): 421-7.

Jansen-Dürr P, Osiewacz HD. Healthy ageing: a question of stress, damage and repair. Meeting on mechanisms of biological ageing. *EMBO Rep*. 2002; 3(12):1127-32.

Jeppesen DK, Bohr VA, Stevnsner T. DNA repair deficiency in neurodegeneration. *Prog Neurobiol*. 2011; 94(2):166-200.

Johnston APW, Lisio M, Parise G. Resistance training, sarcopenia, and the mitochondrial theory of aging. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2008; 33 (1): 191-199.

Jolitha AB, Subramanyam MV, Asha Devi S. Modification by vitamin E and exercise of oxidative stress in regions of aging rat brain: studies on superoxide dismutase isoenzymes and protein oxidation status. *Exp Gerontol*. 2006; 41(8):753-63.

Kang C, Chung E, Diffie G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated reduction in mitochondrial biogenesis in rat skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc*. 2009; 41(5): S44.

Katzmarzyk PT, Janssen I. The economic costs associated with physical inactivity and obesity in Canada: an update. *Can J Appl Physiol*. 2004; 29: 90–115.

Kazak L, Reyes A, Holt IJ. Minimizing the damage: repair pathways keep mitochondrial DNA intact. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2012; 13: 659–671.

Ke HC, Huang HJ, Liang KC, Hsieh-Li HM. Selective improvement of cognitive function in adult and aged APP/PS1 transgenic mice by continuous non-shock treadmill exercise. *Brain Res*. 2011; 1403 (1):1-11.

Kelley MR, Kow YW, Wilson III DM. Disparity between DNA Base Excision Repair in Yeast and Mammals: Translational Implications. *Cancer Research*. 2003; 63: 549–554.

Kim DM, Leem YH. Chronic stress-induced memory deficits are reversed by regular exercise via AMPK-mediated BDNF induction. *Neuroscience*. 2016; 324:271–285.

Kleschevnikov AM, Routtenberg A. PKC activation rescues LTP from NMDA receptor blockade. *Hippocampus*. 2001; 11:168 –175.

Kumar A, Foster TC. Linking redox regulation of NMDAR synaptic function to cognitive decline during aging. *J Neurosci*. 2013; 33(40):15710-5.

Kumar A. NMDA Receptor Function During Senescence: Implication on Cognitive Performance. *Frontiers in Neuroscience*. 2015 9:473.

Lan JY, Skeberdis VA, Jover T, Grooms SY, Lin Y, Araneda RC, Zheng X, Bennett MV, Zukin RS. Protein kinase C modulates NMDA receptor trafficking and gating. *Nat Neurosci*. 2001; 4(4):382–390.

Larson EB, Wang L, Bowen JD, et al. Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older. *Ann Intern Med*. 2006; 144: 73.

Lautenschlager NT, Cox K, Cyarto EV. The influence of exercise on brain aging and dementia. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1822: 474-481.

Lavie CJ, Menezes AR, De Schutter A, Milani RV, Blumenthal JA. Impact of Cardiac Rehabilitation and Exercise Training on Psychological Risk Factors and Subsequent Prognosis in Patients with Cardiovascular Disease. *Can J Cardiol*. 2016; 32(10S2): S365-S373.

Leckie RL, Oberlin LE, Voss MW, Prakash RS, Szabo-Reed A, Chaddock-Heyman L, Phillips SM, Gothe NP, Mailey E, Vieira-Potter VJ, Martin SA, Pence BD, Lin M, Parasuraman R, Greenwood PM, Fryxell KJ, Woods JA, McAuley E, Kramer AF⁵, Erickson KI. BDNF mediates improvements in executive function following a 1-year exercise intervention. *Front Hum Neurosci*. 2014; 11:8:985.

Lee H, Kim H, Lee J, Kim Y, Yang H, Chang H. Maternal swimming during pregnancy enhances short-term memory and neurogenesis in the hippocampus of rat pups. *Brain & Development*. 2006; 28:147-54.

Leffa DD, Damiani AP, Damazio DD, Guerra NP, Moretti M, de Brito GG, Boeck CR, Gavioli EC, de Andrade VM. Long-term effects of ageing and ovariectomy on aversive and recognition memory and DNA damage in the hippocampus of female rats. *Acta Neuropsychiatr.* 2014; 26(3):161-9.

Lewin GR, Barde YA. Physiology of the neurotrophins. *Annu. Rev. Neurosci.* 1996; 19: 289–317.

Li M., Wilson D.M. III, Humanapurinic /apyrimidinendonuclease1, Anti- oxid. RedoxSignal. 2014; 20: 678–707.

Li Y, Luikart BW, Birnbaum S, Chen J, Kwon CH, Kernie SG, Bassel-Duby R, Parada LF. TrkB regulates hippocampal neurogenesis and governs sensitivity to antidepressive treatment. *Neuron.* 2008; 59, 399–412.

Lim KC, Lim ST, Federoff HJ. Neurotrophin secretory pathways and synaptic plasticity. *Neurobiol Aging.* 2003; 24:1135-1145.

Linnane AW, Marzuki S, Ozawa T, Tanaka M. Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to ageing and degenerative diseases. *Lancet.* 1989; 1: 642–645.

Liu HL, Zhao G, Cai K, Zhao HH, Shi LD. Treadmill exercise prevents decline in spatial learning and memory in APP/PS1 transgenic mice through improvement of hippocampal long-term potentiation. *Behav Brain Res.* 2011; 218: 308-314.

Lord CJ, Ashworth A. The DNA damage response and cancer therapy. *Nature.* 2012; 481: 287–294.

Lu B, Pang PT, Woo NH. The yin and yang of neurotrophin action. *Nat Rev Neurosci.* 2005; 6(8):603-14.

Lu C, Chan SL, Haughey N, Lee WT, Mattson MP. Selective and biphasic effect of the membrane lipid peroxidation product 4-hydroxy-2,3-nonenal on N-methyl-D-aspartate channels. *J Neurochem.* 2001; 78:577-89.

Mahncke HW, Bronstone A, Merzenich MM. Brain plasticity and functional losses in the aged: scientific bases for a novel intervention. *Progress in Brain Research*. 2006; 157: 81–109.

Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron*. 2004; 44(1): 5-21.

Marais L, Stein DJ, Daniels WM. Exercise increases BDNF levels in the striatum and decreases depressive-like behavior in chronically stressed rats. *Metab Brain Dis*. 2009; 24: 587–597.

Marini AM, Jiang X, Wu X, Pan H, Guo Z, Mattson MP, et al. Preconditioning and neurotrophins: A model for brain adaptation to seizures, ischemia and other stressful stimuli. *Amino Acids*. 2007; 32:299–304.

Marlatt MW, Potter MC, Lucassen PJ, van Praag H. Running throughout middle-age improves memory function, hippocampal neurogenesis, and BDNF levels in female C57BL/6J mice. *Dev Neurobiol*. 2012; 72(6):943–952.

Mastorakos G, Pavlatou M, Diamanti-Kandarakis E, Chrousos GP. Exercise and the stress system. *Hormones (Athens)*. 2005; 4:73-89.

Mattson MP, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci*. 2004; 27(10): 589-94.

Meeker RB, Williams KS. The p75 neurotrophin receptor: at the crossroad of neural repair and death. *Neural Regeneration Research*. 2015; 10(5):721–725.

Mello PB, Benetti F, Cammarota M, Izquierdo I. Effects of acute and chronic physical exercise and stress on different types of memory in rats. *An Acad Bras Cienc*. 2008; 80:301-9.

Migaud M, Charlesworth P, M. Dempster LC, Webster AM, Watabe M, Makhinson Y, He MF, Ramsay RG, Morris JH, Morrison. Enhanced long-term potentiation and impaired learning in mice with mutant postsynaptic density-95 protein. *Nature*. 1998; 396: 433–439

Molteni R, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Differential effects of acute and chronic exercise on plasticity-related genes in the rat hippocampus revealed by microarray. *Eur J Neurosci* 2002; 16: 1107-1116.

Moore CI, Browning MD, Rose GM. Hippocampal plasticity induced by primed burst, but not long-term potentiation, stimulation is impaired in area CA1 of aged Fischer 344 rats. *Hippocampus*. 1993; 3: 57–66.

Mora F, Segovia G, del Arco A. Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. *Brain Res Rev*. 2007; 55(1):78-88.

Morel GR, Andersen T, Pardo J, Zuccolilli GO, Cambiaggi VL, Hereñú CB, Goya RG. Cognitive impairment and morphological changes in the dorsal hippocampus of very old female rats. *Neuroscience*. 2015; 10 (303):189-99.

Morrison JH, Baxter MG The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline. *Nat Rev Neurosci*. 2012; 13(4):240-50.

Mourão FA, Leite HR, de Carvalho LE, Ferreira E Vieira TH, Pinto MC, de Castro Medeiros D, Andrade IL, Gonçalves DF, Pereira GS, Dutra Moraes MF, Massensini AR. Neuroprotective effect of exercise in rat hippocampal slices submitted to in vitro ischemia is promoted by decrease of glutamate release and pro-apoptotic markers. *J Neurochem*. 2014; 131(1):65–73.

Mozzachiodi R; Byrne JH. More than synaptic plasticity: role of nonsynaptic plasticity in learning and memory. *Trends Neurosci*. 2010; 33: 17–26.

Murphy JL, Blakely EL, Schaefer AM, et al. Resistance training in patients with single, large-scale deletions of mitochondrial DNA. *Brain* 2008; 131: 2832-40.

Navarro A, Boveris A. Brain mitochondrial dysfunction in aging: conditions that improve survival, neurological performance and mitochondrial function. *Front Biosci*. 2007; 12:1154-63.

Neeper SA, Gómez-Pinilla, F, Choi J, Cotman CW. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res.* 1996; 726, 49–56.

Noschang CG, Pettenuzzo LF, Toigo EVP, Andreazza AC, Krolow R, Fachin F, Ávila MC, Arcego D, Crema LM, Diehl LA, Gonçalves CA, Vendite, Dalmaz C. Sex-specific differences on caffeine consumption and chronic stress-induced anxiety-like behavior and DNA breaks in the hippocampus. *Pharmacol Biochem Behav.* 2009; 94 (1): 63-9.

Oeseburg H, de Boer RA, van Gilst WH, van der Harst P. Telomere biology in healthyaging and disease. *Pflugers Arch.* 2010; 459(2): 259-68.

Ogonovszky H, Sasvári M, Dosek A, Berkes I, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Goto S, Radák Z. The effects of moderate, strenuous, and overtraining on oxidative stress markers and DNA repair in rat liver. *Can J Appl Physiol.* 2005; 30(2):186-95.

OMS. Organização Mundial de Saúde. Relatório Mundial sobre Violência e Saúde, 2012.

Ozbas-Gerceker F, Gorter JA, Redeker S, Ramkema M, van der Valk P, Baayen JC, Ozguc M, Saygi S, Soylemezoglu F, Akalin N, Troost D, Aronica E. Neurotrophin receptor immunoreactivity in the hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2004; 30:651–664.

Palomero J, Broome CS, Rasmussen P, Mohr M, Nielsen B, Nybo L, McArdle A, Drust B. Heat shock factor activation in human muscles following a demanding intermittent exercise protocol is attenuated with hyperthermia. *Acta Physiol.* 2008; 193:79–88.

Park Y, Gerson SL. DNA repair defects in stem cell function and aging. *Annu Rev Med.* 2005; 56: 495-508.

Park JH, Lee CH, Yoo Ki-Yeon, Choi JH, Hwang In Koo, Lee Jae-Yong, Kang Il-Jun, Won Moo-Ho. FoxO3a immunoreactivity is markedly decreased in the dentate gyrus, not the hippocampus proper, of the aged gerbil. *Experimental Gerontology.* 2011; 46: 836–840

Pedersen, B.K., Hoffman-Goetz, L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiological Reviews*. 2000; 80(3): 1055-1081.

Perovic M, Tesic V, Mladenovic Djordjevic A, Smiljanic K, Loncarevic-Vasiljkovic N, Ruzdijic S, Kanazir S. BDNF transcripts, proBDNF and proNGF, in the cortex and hippocampus throughout the life span of the rat. *Age (Dordr)*. 2013; 35:2057–2070.

Pfefferbaum A, Sullivan EV. Frontal, parietal, and callosal degradation in aging: a quantitative DTI fiber tracking study. *Neuropsychopharmacology*. 2005; 30(S1):80- 81.

Pires RS. Neuroplasticidade e Envelhecimento. In: Kogan EG, editor. *Funcionalidade e Envelhecimento Fisioterapia: Teoria e Prática Clínica*. Rio de Janeiro, 2009.

Piskorowski, Rebecca A. et al. Age-Dependent Specific Changes in Area CA2 of the Hippocampus and Social Memory Deficit in a Mouse Model of the 22q11.2 Deletion Syndrome. *Neuron*. 2016; 89 (1): 163 – 176.

Radak Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Pucsok J, Sasvári M, Nyakas C, Goto S. Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. *Neurochem Int*. 2001; 38: 17-23.

Radak Z, Naito H, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Takahashi RF, Cardozo-Pelaez SG. Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. *Pflugers Arch*. 2002; 445: 273–278.

Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med*. 2008; 44: 153–159.

Radak Z, Zhao Z, Koltai E, Ohno H, Atalay M. Oxygen Consumption and Usage During Physical Exercise: The Balance Between Oxidative Stress and ROS-Dependent Adaptive Signaling Antioxid Redox Signal. 2013; 18(10): 1208–1246.

Radak Z, Suzuki K, Higuchi M, Balogh L, Boldogh I, Koltai E. Physical exercise, reactive oxygen species and neuroprotection. *Free Radic Biol Med*. 2016; 98:187-96.

Raguso CA, Kyle U, Kossovsky MP, Roynette C, Paoloni-Giacobino A, Hans D, Genton L, Pichard C. A 3-year longitudinal study on body composition changes in the elderly: role of physical exercise. *Clin Nutr*. 2006; 25: 573–580.

Rao KS. DNA repair in aging rat neurons. *Neuroscience*. 2007; 145(4):1330-40.

Reaper PM, di Fagagna Fd, Jackson SP. Activation of the DNA damage response by telomere attrition: a passage to cellular senescence. *Cell Cycle*. 2004; 3(5):543-6.

Redila VA, Olson AK, Swann SE, Mohades G, Webber AJ, Weinberg J, Christie BR. Hippocampal cell proliferation is reduced following prenatal ethanol exposure but can be rescued with voluntary exercise. *Hippocampus*. 2006; 16:305–311.

Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 2006; 361, 1545–1564.

Renault V.M, Rafalski V.A., Morgan A.A., Salih D.A., Brett J.O., Webb A.E., Villeda S. A., Thekkat P.U., Guillerey C., Denko N.C., Palmer T.D., Butte A.J., Brunet A., FoxO3 regulates neural stem cell homeostasis. *Cell Stem Cell*. 2009; (5): 527–539.

Robertson AB, Klungland A, Rognes T, Leiros I. DNA repair in mammalian cells: Base excision repair: the long and short of it. *Cell Mol Life Sci*. 2009; 66(6):981-93.

Rushaniya A. Khairova, Rodrigo Machado-Vieira, Jing Du, and Hussein K. Manji. A potential role for pro-inflammatory cytokines in regulating synaptic plasticity in major depressive disorder. *J Neuropsychopharmacol*. 2009; 12(4): 561–578.

Sandoval M, Sandoval R, Thomas U, Spilker C, Smalla KH, Falcon R, Marengo JJ, Calderón R, Saavedra V, Heumann R, Bronfman F, Garner CC, Gundelfinger ED, Wyneken U. Antagonistic effects of TrkB and p75(NTR) on NMDA receptor currents in post-synaptic densities transplanted into *Xenopus* oocytes. *J Neurochem.* 2007; 101(6):1672–1684.

Santello M, Volterra A. TNF α in synaptic function: switching gears. *Trends Neurosci.* 2012; 35(10):638-47.

Sastre J, Asensi M, Gasco E et al. Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. *Am J Physiol.* 1992; 2: 992–995

Scliar M. História do conceito de saúde. *Revista de saúde coletiva Physis.* 2007; 17: 29-41.

Seene T, Kaasik P. Role of exercise therapy in prevention of decline in aging muscle function: glucocorticoid myopathy and unloading. *J Aging Res.* 2012; 172492.

Segovia G, Del Arco A, Mora F. Environmental enrichment, prefrontal cortex, stress, and aging of the brain. *J Neural Transm.* 2009; 116(8): 1007-1016.

Shammas MA. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011; 14(1):28-34.

Sharma S, Rakoczy S, Brown-Borg H. Assessment of spatial memory in mice. *Life Sci.* 2010; 87(17-18):521-36.

Sherwin CM. Voluntary wheel running: a review and novel interpretation. *Anim Behav.* 1998; 56:11-27.

Shih PC, Yang YR, Wang RY. Effects of exercise intensity on spatial memory performance and hippocampal synaptic plasticity in transient brain ischemic rats. *PLoS One.* 2013; 8(10): e78163.

Siamilis S, Jakus J, Nyakas C, Costa A, Mihalik B, Falus A, Radak Z: The effect of exercise and oxidant-antioxidant intervention on the levels

of neurotrophins and free radicals in spinal cord of rats. *Spinal Cord*. 2009; 47:453–7.

Silva J, Erdtmann B, Henriques JAP. *Genética Toxicológica*. Porto Alegre: Editora alcance, 2003. 422p.

Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*. 1988; 175(1): 184-91.

Soares JP, Silva AI, Silva AM, Almeida V, Teixeira JP, Matos M, Gaivão I, Mota MP. Effects of physical exercise training in DNA damage and repair activity in humans with different genetic polymorphisms of hOGG1 (Ser326Cys). *Cell Biochem Funct*. 2015; 33(8):519-24.

Steiner P, Higley MJ, Xu W, Czervionke BL, Malenka RC, Sabatini BL. Destabilization of the postsynaptic density by PSD-95 serine 73 phosphorylation inhibits spine growth and synaptic plasticity. *Neuron*. 2008; 60(5):788-802.

Stranaham AM, Martin B, Maudsley S. Anti-inflammatory effects of physical activity in relationship to improved cognitive status in humans and mouse models of alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2012; 9:86-92.

Takubo K, Aida J, Izumiyama-Shimomura N, Ishikawa N, Sawabe M, Kurabayashi R, Shiraishi H, Arai T, Nakamura K. Changes of telomere length with aging. *Geriatr Gerontol Int*. 2010; 10(1):197-206.

Tan S-L, Parker PJ. Emerging and diverse roles of protein kinase C in immune cell signalling. *Biochemical Journal*. 2003; 376:545–552.

Tauler P, Aguilo A, Gimeno I, Fuentespina E, Tur JA, Pons A. Response of blood cell antioxidant enzyme defences to antioxidant diet supplementation and to intense exercise. *Eur J Nutr*. 2006; 4:187–195.

Tell G, Quadrifoglio Tiribelli FC, Kelley MR. ThemanyfunctionsofAPE1/ Ref-1: not only a DNA repair enzyme,Antioxid.RedoxSignal. 2009; 11: 601–620.

Teng HK, Teng KK, Lee R, Wright S, Tevar S, Almeida RD, Kermani P, Torkin R, Chen ZY, Lee FS, Kraemer RT, Nykjaer A, Hempstead BL. ProBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex of p75NTR and sortilin. *J Neurosci*. 2005; 25(22):5455-63.

Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu, J. C.; Sasaki, Y. F. Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing. *Environ Mol Mutagen*. 2000; 35(3):206-21.

Tonelli LH, Postolache TT. Tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 beta, interleukin-6 and major histocompatibility complex molecules in the normal brain and after peripheral immune challenge. *Neurological Research*. 2005; 27:679-684.

Tremblay MS, Shephard RJ, Brawley LR, Cameron C, Craig CL, Duggan M, Esliger DW, Hearst W, Hicks A, Janssen I, Katzmarzyk PT, Latimer AE, Ginis KA, McGuire A, Paterson DH, Sharratt M, Spence JC, Timmons B, Warburton D, Young TK, and Zehr L. Physical activity guidelines and guides for Canadians: facts and future. *Can J Public Health*. 2007; 98(2): 218-S224.

Tuon T, Souza Priscila S, Santos MF, Pereira FT, Fidelis GS, Luciano Thais F, De Souza CT, Dutra RC, Silveira PCL, Pinho Ricardo A. Physical Training Regulates Mitochondrial Parameters and Neuroinflammatory Mechanisms in an Experimental Model of Parkinson Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015; 2015: 1-10.

Tuon T, Valvassori Samira S, Dal Pont GC, Paganini CS, Pozzi BG, Luciano Thais F, Souza Priscila S, Quevedo João, Souza CT, Pinho RA. Physical training prevents depressive symptoms and a decrease in brain-derived neurotrophic factor in parkinson's disease. *Brain Research Bulletin*. 2014; 108: 106-112.

Tuon T, Valvassori SS, Lopes-Borges J, Luciano T, Trom CB, Silva LA, Quevedo J, Souza CT, Lira FS, Pinho RA. Physical training exerts neuroprotective effects in the regulation of neurochemical factors in an animal model of Parkinson's disease. *Neurosci*. 2012; 227:305-312.

Van der Zee EA, Palm IF, O'Connor M, Maizels ET, Hunzicker-Dunn M, Disterhoft JF. Aging-related alterations in the distribution of Ca (2+)-dependent PKC isoforms in rabbit hippocampus. *Hippocampus*. 2004; 14: 849–86010.

Van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci*. 2005; 25: 8680–8685.

Van Praag H. Neurogenesis an exercise: past and future directions. *Neuromol Med*. 2008; 10:128-140.

Waynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci*. 2004; 20: 2580–2590.

Vechetti-Junior JJ, Bertaglia RS, Fernandez GJ, Paula TG, Souza RWA, Moraes LN, Mareco EA, Freitas CEA, Aguiar AF, Carvalho RF, Maeli Dal-Pai-Silva. Aerobic Exercise Recovers Disuse-induced Atrophy Through the Stimulus of the LRP130/ PGC-1 α Complex in Aged Rats. *Journals of Gerontology Biological Sciences*. 2015; 1–9.

Walz R, Lenz G, Roesler R, Vianna MMR, Marins V, Brentani R, Rodnight R, Izquierdo I. Time-dependent enhancement of inhibitory avoidance retention and MAPK activation by post-training infusion of nerve growth factor into CA1 region of hippocampus of adult rats. *European Journal of Neuroscience*. 2000; 12: 2185-2189.

Wang H, Peng RY. Basic roles of key molecules connected with NMDAR signaling pathway on regulating learning and memory and synaptic plasticity. *Mil Med Res*. 2016; 3(1):26.

Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ*. 2006; 174(6): 801-809.

Wei Y, Wang N, Lu Q, Zhang N, Zheng D, Li J. Enhanced protein expressions of sortilin and p75NTR in retina of rat following elevated intraocular pressure-induced retinal ischemia. *Neurosci Lett*. 2007; 429:169–174.

Weintraub D, Morgan JC. Both the body and brain benefit from exercise: potential win-win for Parkinson's disease patients. *Mov Disord.* 2011; 26:607-12.

Weissman L, de Souza-Pinto NC, Mattson MP, Bohr VA. DNA base excision repair activities in mouse models of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2009; 30(12): 2080-1.

Wick G, Jansen-Dur P, Berger P, Blasco I, Grubeck-Loebstein B. Diseases of aging. *Vaccine.* 2000; (18):1567-1583.

Williams PT. Lower Risk of Alzheimer's Disease Mortality with Exercise, Statin, and Fruit Intake. *J Alzheimers Dis.* 2014; 44(4):1121-9.

Wilmore JH, Costil DL. *Fisiologia do Esporte e do Exercício.* 2º edição. São Paulo: Editora Manole, 2001.

Woo NH, Teng HK, Siao CJ, Chiaruttini C, Pang PT, Milner TA, Hempstead BL, Lu B. Activation of p75NTR by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. *Nat Neurosci.* 2005; 8:1069–1077.

Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. The interplay between oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor modulates the outcome of a saturated fat diet on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci.* 2004; 19:1699–707.

Wu CL, Chen SD, Yin JH, Hwang CS, Yang DI. Nuclear factor-kappaB- dependent Sestrin2 induction mediates the antioxidant effects of BDNF against mitochondrial inhibition in rat cortical neurons, *Mol. Neurobiol.* 2016; 53(6):4126-42.

Wu D, Pardridge WM. Neuroprotection with noninvasive neurotrophin delivery to the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999; 96(1):254-9.

Xi H, Li C, Ren F, Zhang H, Zhang L. Telomere, aging and age-related diseases. *Aging Clin Exp Res.* 2013; 25(2):139-46.

Yaffe K, Barnes D, Nevitt M, Lui LY, Covinsky K. A prospective study of physical activity and cognitive decline in elderly women: women who walk. *Arch Intern Med.* 2001; 161:1703-1708.

Yang JL, Tadokoro T, Keijzers G, Mattson MP, Bohr VA. Neurons efficiently repair glutamate-induced oxidative DNA damage by a process involving CREB-mediated upregulation of apurinic endonuclease 1. *Journal of Biological Chemistry.* 2010; 285: 28191–28199.

Yang JL, Lin YT, Chuang PC, Bohr VA, Mattson MP. BDNF and exercise enhance neuronal DNA repair by stimulating CREB-mediated production of apurinic/ apyrimidinic endonuclease 1. *Neuromol Med.* 2014; 16(1):161-74.

Yankner BA, Lu T, Loerch P. The Aging Brain. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease.* 2008; 3:41–66

Yoshii A, Constantine-Paton M. BDNF induces transport of PSD-95 to dendrites through PI3K- AKT signaling after NMDA receptor activation. *Nat Neurosci.* 2007; 10 (6): 702-11.

Zamzow DR, Elias V, Shumaker M, Larson C, Magnusson KR An increase in the association of GluN2B containing NMDA receptors with membrane scaffolding proteins was related to memory declines during aging. *J Neurosci.* 2013; 33(30):12300-5.

Zhao G, Liu HL, Zhang H, Tong XJ. Treadmill exercise enhances synaptic plasticity, but does not alter β -amyloid deposition in hippocampi of aged APP/PS1 transgenic mice. *Neuroscience.* 2015; 298:357-66.

Zhao X, Gan L, Pan H, Kan D, Majeski M, Adam SA *et al.*. Multiple elements regulate nuclear/cytoplasmic shuttling of FOXO1: characterization of phosphorylation- and 14-3-3-dependent and -independent mechanisms. *Biochem J.* 2004; 378: 839–849.

Zhao X., Rosenke R., Kronemann D., Brim B., Das S. R., Dunah A. W., et al.. The effects of aging on N-methyl-d-aspartate receptor subunits in

the synaptic membrane and relationships to long-term spatial memory. *Neuroscience*. 2009; 162, 933–945.

Zhu W, Bijur GN, Styles NA, Li X. Regulation of FOXO3a by brain-derived neurotrophic factor in differentiated human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Brain Res Mol Brain Res*. 2004; 126: 45–56.



Resolução

A Comissão de Ética no Uso de Animais, normatizada pela Resolução n. 02/2011/Câmara Prorex de acordo com a Lei Federal 11.794, analisou o projeto abaixo.

Protocolo: 016/2013

Professor Responsável: Ricardo Aurino de Pinho

Equipe: Camila Baumer Tramm e Luciano Acordi da Silva

Título: "Resposta do exercício agudo em diferentes intensidades e do treinamento sobre marcadores do metabolismo energético e estresse oxidativo em músculo esquelético de ratos idosos".

Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicado a CEUA. Foi autorizada a utilização no total de 54 Ratos Wistar 325 a 575 g. Os membros da CEUA não participaram do processo de avaliação dos projetos em que constam como pesquisadores. Para demais dúvidas, contatar a CEUA pelo e-mail ceua@uneso.net.

The animal research Ethics Committee, sanctioned by the resolution number 02/2011/Câmara Prorex, in accordance with federal law number 11.794, has analyzed the following Project:

Protocol number: 016/2013

Principal Investigator: Ricardo Aurino de Pinho

Researchers: Camila Baumer Tramm e Luciano Acordi da Silva

Project title: "Response to exercise acute in different intensities and the training on markers of energy metabolism and oxidative stress in skeletal muscle of elderly rats. "

The project was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us on www.uneso.net/prorex/ceua or by e-mail: ceua@uneso.net.

Criciúma, 19 de março de 2013.


Patrícia Fernanda Schuck
 Coordenadora da CEUA